

ARCHIV

für

Mikroskopische Anatomie

I. Abteilung:

**für vergleichende und experimentelle
Histologie und Entwicklungsgeschichte**

II. Abteilung

für Zeugungs- und Vererbungslehre

herausgegeben

von

O. Hertwig und **W. Waldeyer**
in Berlin

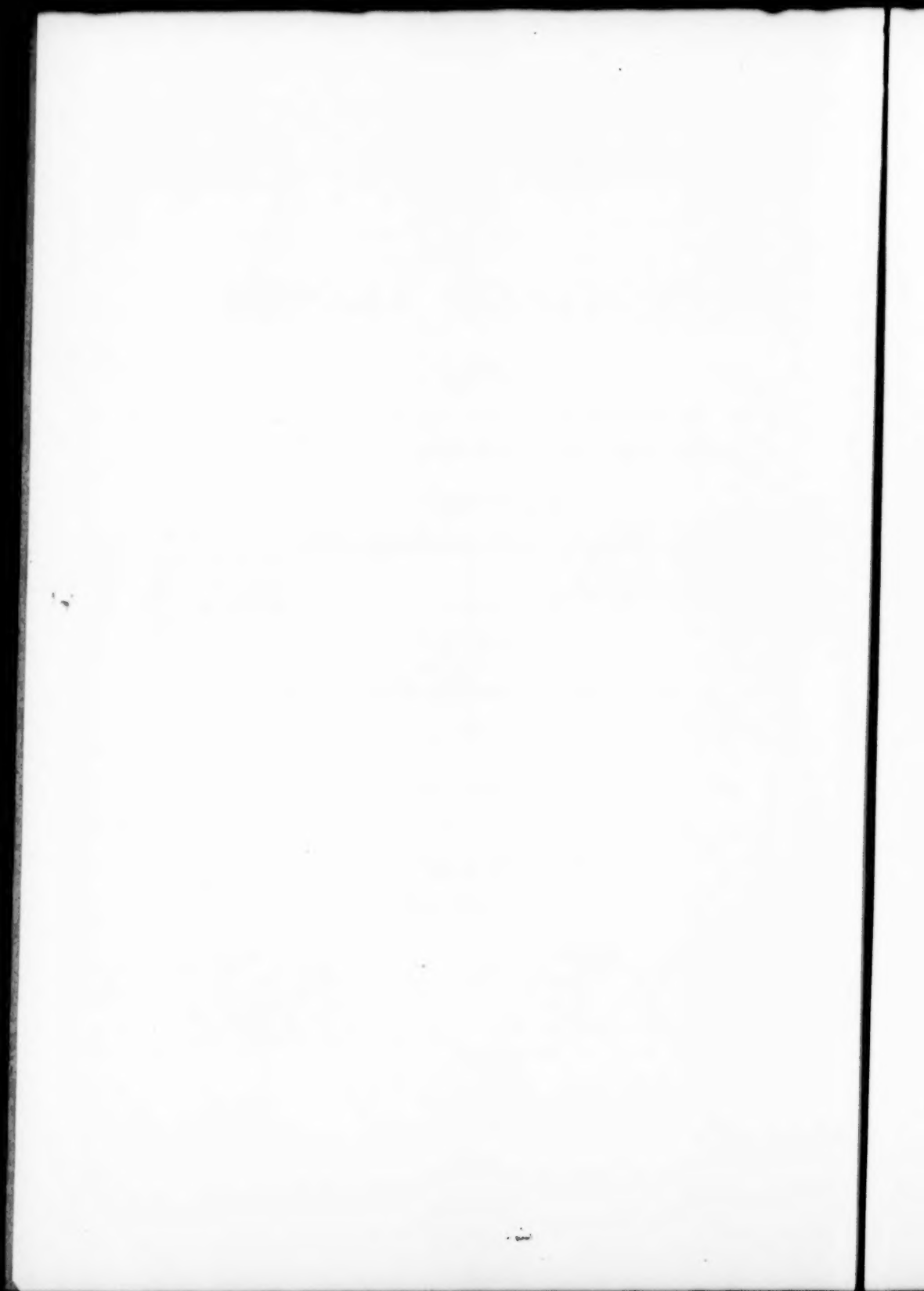
Dreiundachtzigster Band

Mit 39 Tafeln und 139 Textfiguren

BONN

Verlag von Friedrich Cohen

1913



Inhalt.

Abteilung I.

Erstes und zweites Heft. Ausgegeben am 22. Sept. 1913. Seite

Untersuchungen über die Beziehungen der Myofibrillen zu den Sehnenfibrillen. Von Dr. Tiberius Péterfi. (Aus dem I. Anatomischen Institut der königl. ung. Universität in Budapest. [Vorstand: Professor Dr. M. v. Lenhossék.]) Hierzu Tafel I—III und 13 Textfiguren	1
Die Entwicklung des Cranial- und Visceralskeletts von Petromyzon fluviatilis. Von Alban Schalk, Mainz a. Rh. Hierzu Tafel IV und 34 Textfiguren	43
Die zentralen Sinnesorgane bei Petromyzon. Von D. Tretjakoff, Odessa. Hierzu Tafel V und VI	68
Über Frühstadien der Entwicklung von Schuppe und Feder. Von Joseph Schleidt. (Aus dem Histologischen Institut in Wien.) Hierzu Tafel VII	118
Der mikrochemische Nachweis der Peroxydase und Pseudoperoxydase in tierischen Geweben. Von Dr. Richard Fischel, Bad Hall. (Aus der k. k. dermatologischen Universitätsklinik der deutschen Universität in Prag. [Vorstand Prof. C. Kreibich])	130

Drittes Heft. Ausgegeben am 25. Oktober 1913.

Über Mitochondrien (Chondriokonten) und mitochondriale Stränge (= sog. Eberth'sche intrazelluläre Gebilde) in den Epidermiszellen der Anurenlarven nebst Bemerkungen über die Frage der Epidermis-Cutisgrenze. Von Sakae Saguchi. (Aus dem Anatomischen Institut zu Kanazawa, Japan.) Hierzu Tafel VIII—XII und 5 Textfiguren	177
Untersuchungen über Blut und Bindegewebe. VI. Über Blutmastzellen. Von Dr. Alexander Maximow, Prof. der Histologie und Embryologie an der Kaiserlichen Medizinischen Militär-Akademie zu St. Petersburg. Hierzu Tafel XIII und XIV	247
Über die Erythrophoren in der Haut der Seearbe, Mullus L., und über das Phänomen der momentanen Ballung und Ausbreitung ihres Pigmentes. Nach Beobachtungen an der lebenden Zelle. Von Prof. Dr. med. et phil. E. Ballowitz, Direktor des Anatomischen Instituts der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster i. W. Hierzu Tafel XV und XVI	290
Über die Bildung von Leukozyten in der menschlichen und tierischen Thymus des erwachsenen Organismus. Von Paul Weill. XI. Fortsetzung der „Studien über das Blut und die blutbildenden und -zerstörenden Organe“. Von Franz Weidenreich. (Aus dem Anatomischen Institut in Strassburg.) Hierzu Tafel XVII und XVIII	305

IV

Plasmafibrillen und Chondriokonten in den Stäbchenepithelien der Niere. Von Dr. A. N. Mislowsky aus Kazan. (Aus der Anatomischen Anstalt zu Tübingen.) Hierzu Tafel XIX	Seite 36f
---	--------------

Viertes Heft. Ausgegeben am 8. Dezember 1913.

Die Rhombomeren und ihre Nervenbeziehungen. Von Dr. L. Gräper, erster Assistent am Anatomischen Institut Breslau. Hierzu 18 Textfiguren	37f
Über die Entstehung der quergestreiften Muskelsubstanz bei der Forelle. Beiträge zur Teilkörpertheorie II. Von Martin Heidenhain (Tübingen). (Aus der Anat. Anstalt zu Tübingen.) Hierzu Tafel XX—XXII	42f

Abteilung II.

Erstes und zweites Heft. Ausgegeben am 22. Sept. 1913. Seite

Die Oogenese des Zoogonus mirus Lss. Von Dr. F. Wassermann, Assistent am Anatomischen Institut München. (Aus dem Anat. Institut München. [Direktor Prof. Dr. J. Rückert.]) Hierzu Tafel I—IV und 43 Textfiguren	1
Die Entwicklung von Forelleneiern nach Befruchtung mit radium- bestrahlten Samenfäden. Von Karl Oppermann. Hierzu Tafel V—VII und 10 Textfiguren	14f

Drittes Heft. Ausgegeben am 25. Oktober 1913.

Über die Spermio- und Oogenese der Sclerostomum-Arten des Pferdes unter besonderer Berücksichtigung der Heterochromosomen- forschung. Von Kurt Kühnz. (Aus dem Biologischen Institut der Universität Berlin.) Hierzu Tafel VIII—X und 8 Textfiguren	19f
--	-----

Viertes Heft. Ausgegeben am 8. Dezember 1913.

Beeinflussung der männlichen Keimzellen durch chemische Stoffe. Von Günther und Paula Hertwig. (Aus dem Anat.-biologischen Institut zu Berlin und der Zoologischen Station zu Neapel.) Hierzu Tafel XI, XII und 6 Textfiguren	267
Die Entwicklung von Forelleneiern nach Befruchtung mit radium- bestrahlten Samenfäden. II. Teil. Das Verhalten des Radium- chromatins während der ersten Teilungsstadien. Von Dr. Karl Oppermann. Hierzu Tafel XIII und 2 Textfiguren	307
Die Samenbildung bei den Enten. Von Karl Schöneberg. (Aus dem Anatomisch-biologischen Institut der Berliner Universität.) Hierzu Tafel XIV—XVII	324
Literarisch-kritische Rundschau: Hartog, Mathematics and Mitosis	370

ARCHIV

für

Mikroskopische Anatomie

I. Abteilung

für vergleichende und experimentelle
Histologie und Entwicklungsgeschichte

II. Abteilung

für Zeugungs- und Vererbungslehre

herausgegeben

von

O. Hertwig und **W. Waldeyer**
in Berlin

Dreiundachtzigster Band

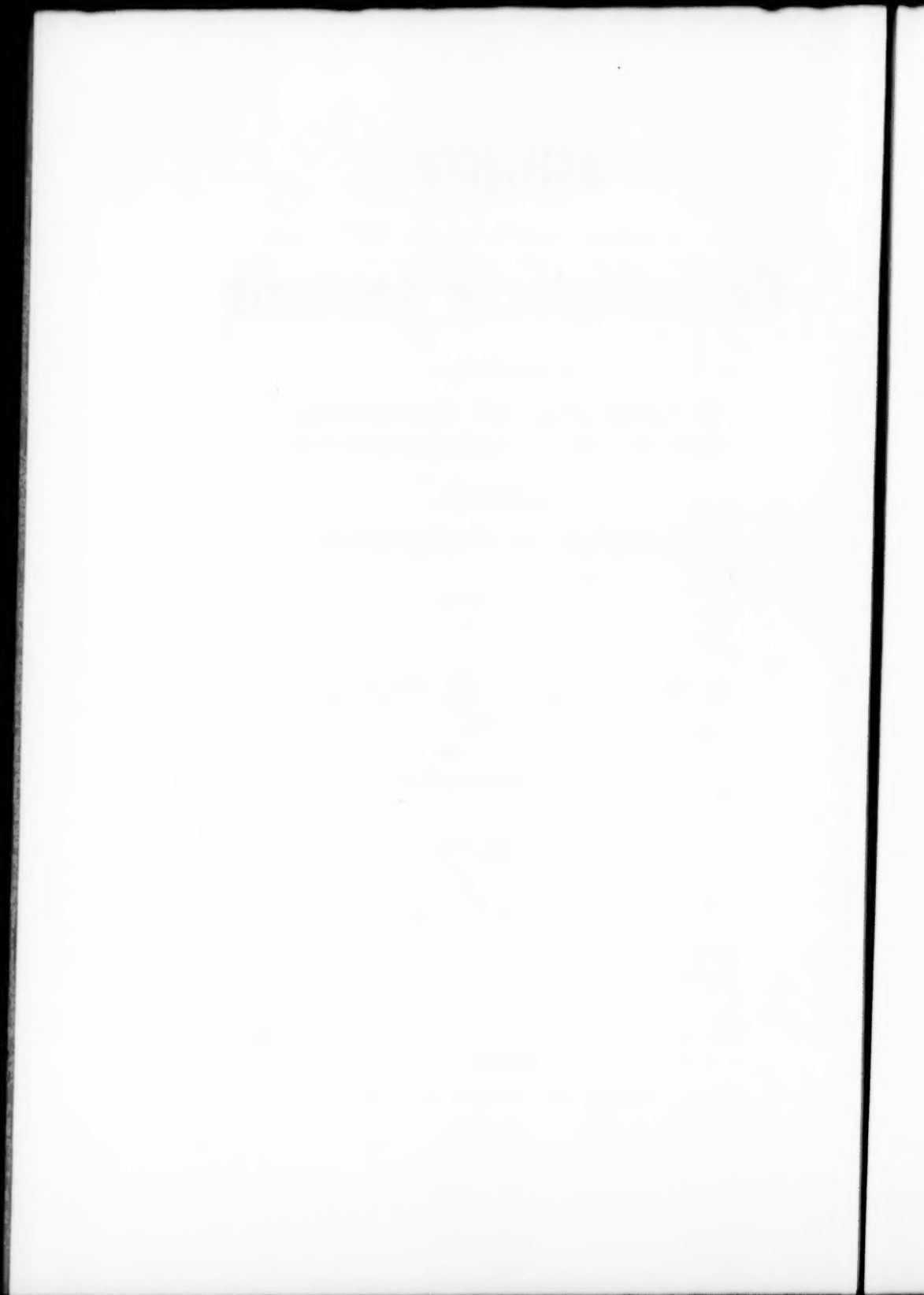
I. Abteilung

Mit 22 Tafeln und 70 Textfiguren

BONN

Verlag von Friedrich Cohen

1913



Inhalt.

Abteilung I.

Erstes und zweites Heft. Ausgegeben am 22. Sept. 1913. Seite

Untersuchungen über die Beziehungen der Myofibrillen zu den Sehnenfibrillen. Von Dr. Tiberius Péterfi. (Aus dem I. Anatomischen Institut der königl. ung. Universität in Budapest. [Vorstand: Professor Dr. M. v. Lenhossék.]) Hierzu Tafel I—III und 13 Textfiguren	1
Die Entwicklung des Cranial- und Visceralskeletts von <i>Petromyzon fluviatilis</i> . Von Alban Schalk, Mainz a. Rh. Hierzu Tafel IV und 34 Textfiguren	43
Die zentralen Sinnesorgane bei <i>Petromyzon</i> . Von D. Tretjakoff, Odessa. Hierzu Tafel V und VI	68
Über Frühstadien der Entwicklung von Schuppe und Feder. Von Joseph Schleidt. (Aus dem Histologischen Institut in Wien.) Hierzu Tafel VII	118
Der mikrochemische Nachweis der Peroxydase und Pseudoperoxydase in tierischen Geweben. Von Dr. Richard Fischel, Bad Hall. (Aus der k. k. dermatologischen Universitätsklinik der deutschen Universität in Prag. [Vorstand Prof. C. Kreibich])	130

Drittes Heft. Ausgegeben am 25. Oktober 1913.

Über Mitochondrien (Chondriokonten) und mitochondriale Stränge (= sog. Eberth'sche intrazelluläre Gebilde) in den Epidermiszellen der Anurenlarven nebst Bemerkungen über die Frage der Epidermis-Cutisgrenze. Von Sakae Saguchi. (Aus dem Anatomischen Institut zu Kanazawa, Japan.) Hierzu Tafel VIII—XII und 5 Textfiguren	177
Untersuchungen über Blut und Bindegewebe. VI. Über Blutmastzellen. Von Dr. Alexander Maximow, Prof. der Histologie und Embryologie an der Kaiserlichen Medizinischen Militär-Akademie zu St. Petersburg. Hierzu Tafel XIII und XIV	247
Über die Erythrophoren in der Haut der Seearbe, <i>Mullus L.</i> , und über das Phänomen der momentanen Ballung und Ausbreitung ihres Pigmentes. Nach Beobachtungen an der lebenden Zelle. Von Prof. Dr. med. et phil. E. Ballowitz, Direktor des Anatomischen Instituts der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster i. W. Hierzu Tafel XV und XVI	290
Über die Bildung von Leukozyten in der menschlichen und tierischen Thymus des erwachsenen Organismus. Von Paul Weill. XI. Fortsetzung der „Studien über das Blut und die blutbildenden und -zerstörenden Organe“. Von Franz Weidenreich. (Aus dem Anatomischen Institut in Strassburg.) Hierzu Tafel XVII und XVIII	305

IV

	Seite
Plasmafibrillen und Chondriokonten in den Stäbchenepithelien der Niere. Von Dr. A. N. Mislawsky aus Kazan. (Aus der Anatomischen Anstalt zu Tübingen.) Hierzu Tafel XIX	361

Viertes Heft. Ausgegeben am 8. Dezember 1913.

Die Rhombomeren und ihre Nervenbeziehungen. Von Dr. L. Gräper, erster Assistent am Anatomischen Institut Breslau. Hierzu 18 Textfiguren	371
Über die Entstehung der quergestreiften Muskelsubstanz bei der Forelle. Beiträge zur Teilkörpertheorie II. Von Martin Heidenhain (Tübingen). (Aus der Anat. Anstalt zu Tübingen.) Hierzu Tafel XX—XXII	427

Aus dem I. Anatomischen Institut der königl. ung. Universität in Budapest.
(Vorstand Prof. Dr. M. v. Lenhossék.)

Untersuchungen über die Beziehungen der Myofibrillen zu den Sehnenfibrillen.

Von

Dr. **Tiberius Péterfi**, Assistenten des Institutes.

Hierzu Tafel I—III und 13 Textfiguren.

Auf der 25. Versammlung der Anatomischen Gesellschaft in Leipzig im Jahre 1911 hat O. Schultze in seinem Vortrage über „Die Kontinuität der Muskelfibrillen und Sehnenfibrillen“ die Behauptung aufgestellt, dass die Myofibrillen der quergestreiften Muskelfasern sich unmittelbar in die Sehnenfibrillen fortsetzen, so zwar, dass zwischen den kontraktile Fibrillen und den kollagenen Fibrillen keine scharfe Grenze zu konstatieren ist. Ausführlich publizierte er seinen diesbezüglichen Vortrag im 79. Band des Archivs für mikroskopische Anatomie unter dem Titel „Über den direkten Zusammenhang von Muskelfibrillen und Sehnenfibrillen“ und gelangt auf Grund seiner aus den Muskeln von Hippocampus, Amphioxus und Amphibienlarven gewonnenen Präparate zu folgenden Schlüssen:

1. Die Myofibrillen setzen sich ohne jede besondere Kittsubstanz unmittelbar in die Sehnenfibrillen fort. 2. Die kontraktile Substanz wandelt sich ohne scharfe Grenze in das kollagene Gewebe um (die Querstreifung verwischt sich allmählich und die Färbung der Myofibrillen geht unmerklich in die der Kollagenfasern über). 3. Am Ende der Muskelfaser durchbohren die zu Sehnenfibrillen umgewandelten Muskelfibrillen das Sarkolemm und verlassen so die Muskelfaser.

In der Diskussion zum Vortrag O. Schultzes bestätigten fast ausnahmslos die verschiedensten Forscher (v. Froriep, Maurer, Held, Strahl, Roux, Fick, Mollier, Emmel) die Behauptungen desselben und unterstützten seine Angaben mit ihren eigenen Beobachtungen. So hebt Maurer hervor, dass er die von Schultze beschriebenen Muskel-Sehnenübergänge bei sämtlichen Vertebraten beobachten konnte.

Held unterstützt und belegt mit entwicklungsgeschichtlichen Beobachtungen die Kontinuität der Muskel-Sehnenfibrillen. Im Sinne dieses Autors unterscheiden wir Sehnenfibrillen rein myoblastischer Genese und solche, die aus dem Perimysium hervorgehen. In der Entwicklung der Myofibrillen mit myoblastischer Herkunft beschreibt er drei Stadien. Im ersten Stadium finden sich noch keine Fibrillen im Myoblast, doch zwischen den Myoblasten sind Plasmodesmosen (Primärsehnern) sichtbar. Im zweiten Stadium kommen quergestreifte Fibrillen im Myoblast zur Entwicklung und setzen sich dieselben in Fäserchen ohne Querstreifung fort, die alsdann gegen die Plasmodesmosen auswachsen. Im dritten Stadium wachsen die ungestreiften Verlängerungen der Myofibrillen ganz in die Plasmodesmosen ein, die wiederum ihren ursprünglichen plasmatischen Charakter verlieren und fester werdend eine Bindegewebsfärbung darbieten.

Roux hob die Beobachtung hervor, dass in der Rückenmuskulatur eines kyphotischen Menschen die Muskelfibrillen nachträglich sich (infolge Selbstregulierung der Länge des Muskels) in Sehnenfibrillen umwandeln. Es wäre somit möglich, dass die Muskelfibrillen direkt in Sehnenfibrillen übergehen. Mollier gelangte auf Grund seiner eigenen Untersuchungen zur gleichen Auffassung betreffs der Kontinuität der Muskel- und Sehnenfibrillen wie O. Schultze.

Emmel bestätigte die Angaben Schultzes mit der Beobachtung, dass er bei eigenen Untersuchungen der Muskulatur der wirbellosen Tiere, insbesondere an der Muskelregeneration der Crustaceen, die Kontinuität der Muskel-Sehnenfibrillen konstatieren konnte.

In der Diskussion gaben der entgegengesetzten Auffassung nur M. Heidenhain und von Ebner mehr oder minder Ausdruck. Heidenhain betonte, dass er wohl an seinen aus Amphibienlarven gewonnenen Präparaten ebenfalls die ungestreiften Enden der quergestreiften Fibrillen sah, vermag aber dieselben, wie er dies in seinem Buche „Plasma und Zelle“ abbildete und beschrieb, nicht als Sehnenfibrillen zu bezeichnen, da in denselben Kontraktionswellen entstehen und sie daher offenbar kontraktile Natur seien. Diese ungestreiften Enden hat er als denjenigen Teil der Fibrillen angesehen, vermöge dessen das Längenwachstum der Faser vor sich geht. Da ferner die am

Ende der Muskelfaser sichtbaren Kontraktionswellen am Sarkolemm mit scharfer Grenze abschneiden, wäre es möglich, bei Beobachtung dieser Kontraktionswellen die Muskelsubstanz genau vom Bindegewebe abzusondern.

v. Ebner erinnert daran, dass die bisherige sich wesentlich auf die mit starker Kalilauge isolierten Präparate stützende Anschauung nur schwer mit der direkten Kontinuität der Muskel- und Sehnenfibrillen in Einklang zu bringen ist.

Nach der Arbeit Schultzes erschien alsbald die ähnliche Mitteilung W. Loginows, betitelt: „Zur Frage von dem Zusammenhang von Muskelfibrillen und Sehnenfibrillen“ (Arch. f. Anat. u. Entwicklungsgesch. 1912, III—IV, 171—186). Auch diese Untersuchungen gingen aus dem Würzburger Anatomischen Institut hervor. Der Autor studierte mit der Technik Schultzes an den Muskeln des Hasen, des Pferdes, Kalbes und Menschen die Beziehungen der Muskel- und Sehnenfibrillen. Der Autor sagt wörtlich folgendes: „Nach den Untersuchungen von O. Schultze blieb nur übrig, diese Tatsache auch an den Muskeln anderer Tiere wahrzunehmen und zwar hauptsächlich dort, wo die Muskelfasern schräg an die Sehnen oder Fascien herantreten, wie es ja bei den gefiederten Muskeln der Fall ist.“ Er machte daher einesteils diejenigen Muskeln zum Gegenstande seiner Untersuchung, die sich gerade in die Sehne fortsetzen, andererseits diejenigen, bei welchen die Muskelfasern schief der Sehne anhaften. In jedem Falle fand er mit den Beobachtungen Schultzes übereinstimmende Bilder, die Myofibrillen setzen sich überall, daher auch in den schief anhaftenden Muskelfasern, unmittelbar in die Sehnenfibrillen fort.

Er bestätigte die allgemeine Gültigkeit der Schultzeschen Anschauung auch dadurch, dass er die verzweigten Muskelfasern des retrolingualen Lymphsackes des Frosches untersuchte und auf Grund elastischer Färbung (Chromhämatoxylin-Orcein) konstatierte, dass sich hier die Myofibrillen in elastische Fasern fortsetzen. Diese Frage, auf deren Wichtigkeit schon Kohn auf der Leipziger Versammlung hinwies, löste Loginow vollkommen im Sinne der Auffassung Schultzes. Die wertvollen und gründlichen Untersuchungen Loginows ergänzen und bestätigen ganz entschieden die Behauptungen O. Schultzes.

Aus all dem geht hervor, dass seit dem Vortrage und der Publikation Schultzes die in dieser Frage sich äussernden

Histologen fast ausnahmslos die Theorie akzeptierten und ihrerseits mit neueren Untersuchungen bekräftigten. Die Erklärung dieses Erfolges liegt einesteils in der Natur des aufgeworfenen Problems, andererseits in der überzeugenden Kraft der Präparate Schultzes. Die Frage selbst zählte, wie gemeiniglich bekannt, zu den ungelösten Problemen der Histologie. Selbst im *Traité d'Histologie* von Prenant-Bouin-Maillard (1911) finden wir über diese Frage nur folgendes erwähnt: „La fibre musculaire se prolonge par un tout petit tendon élémentaire Le mode d'union de la fibre musculaire avec ce tendon élémentaire n'est pas encore parfaitement élucidé. On peut dire que ce petit tendon est le prolongement du tissu conjonctif endomysial et peut-être aussi du sarcolemme qui entourent la fibre musculaire“ (T. II, S. 325).

In welcher Verbindung die Muskelfaser mit der Sehnenfaser stehe, ob die Sehnenfibrillen Fortsetzungen der Myofibrillen seien, wie dies vor Schultze von Fick, Wegener und Golgi behauptet wurde, oder ob die Sehnenfibrillen aus dem Perimysium resp. Endomysium ihren Ursprung nehmen, wie dies auf Grund der Untersuchungen von Kölliker, Biesiadecki und Herzig durch Weismann und Ranvier allgemein verkündet wurde: diese Frage wurde bis Schultze, trotz der einschlägigen vielen Untersuchungen, nicht in dem Maße der notwendigen eingehenden und modernen mikrotechnischen Bearbeitung teilhaftig, wie es die Entscheidung derselben erheischt. In einer Frage, bei welcher die Beziehungen einer hart an der Grenze der mikroskopischen Sichtbarkeit stehenden Muskelfibrille zu den Sehnenfibrillen in Betracht kommen, können mit starker Lauge oder Säure behandelte, ungefärbte oder undifferenziert gefärbte, isolierte Präparate keine beweisende Kraft haben. Trat im Präparate der Zusammenhang zwischen Myofibrillen und Sehnenfibrillen nicht deutlich hervor, so konnten die Anhänger der Kontinuitätslehre mit Fug und Recht einwenden, dass dies nur eine Folge der roheren Präpariermethode sei. Wurde andererseits die Muskelfaser in engem Zusammenhange mit der Sehnenfibrille isoliert, so konnten die Gegner der Kontinuitätslehre stets den Einwand erheben, dass dieser Zusammenhang nur ein scheinbarer sei, indem die Sehnenfibrillen nicht aus der Muskelfaser ihren Ursprung nehmen, vielmehr oberhalb derselben am Sarkolemm liegen.

Es ist das Verdienst O. Schultzes, dieses minutiös feine histologische Problem mit der Subtilität der Frage angemessenen modernen Technik und eingehenden Genauigkeit kritisch beleuchtet zu haben. Mit gutem Rechte konnte Loginow behaupten, dass: „Nach den Untersuchungen von O. Schultze bekam die Frage von der Kontinuität zwischen Muskel und Sehne einen festeren Boden.“ Er demonstrierte an 2 μ dicken Schnittserien, an entsprechend fixiertem Material und scharf gefärbten Präparaten, dass die Myofibrillen sich direkt in die Sehnenfibrillen fortsetzen. Es erscheint daher nur verständlich, dass ein grosser Teil der Forscher sich eher der Erklärung zuwandte, welche sie an mit moderner Technik gemachten deutlichen Präparaten ablesen konnten, als der alten Auffassung, die auf mit obsoleter Technik gemachten Schnitten basierte und eher hypothetischer Natur war. Auch ich vermag durch besondere Gefälligkeit des Herrn Prof. O. Schultze nach persönlicher Einsichtnahme zu bestätigen, dass seine Präparate mit überzeugender Kraft und in klarer Weise die aus denselben gefolgerten Tatsachen demonstrieren und dass die nach denselben angefertigten Abbildungen in künstlerischer Weise lehrreich und naturgetreu erscheinen.

Ein wesentlicher Mangel der Schultzeschen Untersuchungen springt aber sofort nach Durchsicht der Arbeit in die Augen, dass er nämlich seine ganze Theorie aus ungefärbten oder mit nicht entsprechend differenzierender Färbung tingierten Präparaten ableitet. Trotz der Osmium-, Kalibichromat-Osmium-, Formol-Alkohol-fixierungen, der Einbettung in Paraffin-Collodium, der 2 μ dicken Schnittserien, kurz sämtlicher technischer Errungenschaften, die der bisherigen mit Kalilauge, heissem Wasser und Ranvierschem Alkohol arbeitenden Technik gegenüber einen grossen Fortschritt bedeuten, spielen in den Untersuchungen Schultzes noch immer die isolierten, ungefärbten Präparate eine allzu grosse Rolle.

Wohl ergänzt er die hieraus gefolgerten Beobachtungen auch durch die Untersuchung von Schnittpräparaten, die letzteren sind aber nur mit Chromhämatoxylin oder Chromhämatoxylin-Fuchsin S, beziehungsweise mit Van Gieson gefärbt. Loginow untersuchte schon vorwiegend Schnittpräparate, die er aber auch nur mit Schultzeschem Chromhämatoxylin-Fuchsin S oder mit Van Gieson-Färbung behandelte. (Lediglich bei der Färbung der ver-

zweigigen Muskelfasern des retrolingualen Lymphsackes benutzte er eine gut differenzierende Färbung, die mit Chromhämatoxylin-Orcein, worauf ich übrigens später zurückkommen will.) Dieses Färbungsverfahren ist wohl, wie ich im Nachstehenden beweisen will, gerade zur Demonstration der Kontinuität der Muskel-Sehnens fibrillen ganz besonders geeignet, kann aber trotzdem keineswegs als elektive Färbung bezeichnet werden. Das Chromhämatoxylin selbst färbt die Myofibrillen ebenso wie die Sehnens fibrillen, höchstens mit dem Unterschiede, dass es an den Myofibrillen auch die Q- und Z-Streifen dunkelblau zu tingieren imstande ist. Andererseits ist auch das Fuchsin S nicht als spezifisches Färbemittel für Bindegewebe zu bezeichnen, wiewohl es am intensivsten die Kollagenfasern rot färbt. Als nicht spezifisch muss die Färbung deshalb bezeichnet werden: 1. da sie die Myofibrillen ebenfalls färbt, 2. weil sie eine diffuse Tinktion zur Folge hat.

So vermögen wir daher die Tatsache, dass bei der Färbung mit Fuchsin S die rote Tinktion der Kollagenfasern diffus auch auf die Myofibrillen übergreift, viel einfacher so zu erklären, dass die Färbung mit Fuchsin S nicht genügend differenziert, als mit der Annahme, dass die Myofibrillen an dieser Stelle zu kollagenen Fibrillen sich umwandeln. Mit einem Worte, weder das Chromhämatoxylin, noch das Fuchsin S sind jene mikrotechnischen Reagentien, mit Hilfe welcher man die Kontinuität der Myofibrillen und Sehnens fibrillen, die Beziehungen derselben zueinander in einer keinen Zweifel zulassenden Art erklären könnte. Zur definitiven Entscheidung dieser Frage sind Präparate nötig, in welchen einestheils die Myofibrillen, andererseits das Sarkolemm und die Sehnens fibrillen scharf und elektiv gefärbt sind.

Ich habe mir daher zur Aufgabe gemacht, die Untersuchungen Schultzes mit spezifischen, elektiven Bindegewebs-Färbungen nachzuprüfen. Im Sommer des Vorjahres fand ich in Tübingen bei Prof. Heidenhain, im Anatomischen Institut, reichlich Gelegenheit, mir eine Technik anzueignen, die es mir ermöglichte, einerseits die Myofibrillen, andererseits die Bindegewebsfibrillen selbst bei stärkster Vergrößerung scharf mit verschiedener Färbung zu untersuchen. Wenn ich nunmehr im Nachstehenden über diese meine Untersuchungen Bericht erstatte, halte ich es für meine angenehme Pflicht, Herrn Prof. von Froriep, der mir zur Arbeit in seinem Institute bereitwilligst Gelegenheit gab und Herrn

Prof. M. Heidenhain, der mich in sein ausgezeichnetes mikro-technisches Verfahren einweihte, meinen ergebenen Dank zu sagen.

Material und Technik der Untersuchungen.

Meine Untersuchungen machte ich an Amphibienlarven (*Salamandra* atr., mac., *Triton*) und an Muskeln von Fröschen und Mäusen (palmar- und plantare Muskeln, *M. gastrocnemius*). Die Amphibienlarven fixierte ich im ganzen und bettete dieselben entweder im ganzen ein, oder benutzte nur das Schweifende (3 u dicke Serien sind fast unmöglich aus der ganzen Larve zu gewinnen). Zu ihrer Fixierung verwandte ich 1,5% Trichloressigsäure und Sublimatrichloressigsäure („Subtrie“ M. Heidenhains.¹) Einen Teil der Tritonlarven erhielt ich bereits fixiert und in toto mit Boraxkarmin tingiert.

Die Muskeln von Frosch und Maus untersuchte ich in dreifacher Weise: 1. in frischem Zustande, 2. an isolierten und gefärbten Präparaten, 3. an fixiertem und eingebettetem Material. Zur Isolierung brachte ich zweierlei Verfahren in Anwendung:

1. Der Angabe Schultzes gemäss habe ich kleine Muskel-Sehnensstücke in Formol-Alkohol (1 Teil Formol + 2 Teile absol. Alkohol) durch 24 Stunden fixiert, nachher mit Chromhämatoxylin gefärbt (nach Schultze), später die Färbung in mehrfach gewechseltem 70% Alkohol differenziert. Hierauf kam das Material in 1% Fuchsin S (Rubin) durch 24 Stunden zu liegen und nachher wurde es in 96% und absoluten Alkohol gebracht und in Xylol eingelegt.² Die Muskelfasern habe ich in Xylol unter mikroskopischer Kontrolle isoliert.

In Xylol können wir ebenso bequem und mit Erfolg die Isolierung durchführen, wie in 70% Alkohol oder im Gemisch von essigsauerm Kali, destilliertem Wasser und Methylalkohol, überdies haben wir den grossen Vorteil, dass wir das so vorbehandelte Präparat in Kanadabalsam einschliessen können.

2. Im Sinne v. Frorieps habe ich in 2,5% salicylsaurem Alkohol isoliert. Die Muskeln verblieben zwei bis vier Wochen in der isolierenden Flüssigkeit, nachher durch 24 Stunden in Leitungswasser, alsbald in ein bis zwei Stunden aufgekochtem Wasser und schliesslich wurden die so behandelten Fasern in 10% Alkohol eingelegt. Zur Färbung benutzte ich diluierte Lösungen von Hämatoxylin und Fuchsin S. Die im Groben zerfaserten Fasern legte ich auf je 24 Stunden in den Farbstoff ein, nach der Färbung hingegen brachte ich sie nach einer Alkoholserie in Xylol; die Isolierung nahm ich in Xylol vor und schloss die Präparate in Kanadabalsam ein.

Die Behandlung des fixierten und eingebetteten Materials geschah in folgender Weise:

a) Zu jeder Untersuchung wählte ich paarige Muskeln (von der Extremität der rechten und linken Seite), so dass ich den einen Muskel z. B.

¹ „Subtrie“ enthält 9 gr Sublimat, 2 gr Trichloressigsäure, 1 cem Eisessig in 100 cem physiol. Kochsalzlösung.

² Die genaue Beschreibung der Behandlungsmethode siehe im Archiv f. mikroskop. Anatomie, Bd. 79, S. 319.

den *Palmaris longus* der linken Seite nach Schultze, den anderen z. B. den *Palmaris longus* der rechten Seite mit anderen fixierenden Mitteln behandeln konnte. Von den fixierenden Mitteln Schultzes bediente ich mich vorwiegend des Formol-Alkohols (1 Teil Formol + 2 Teile absol. Alkohol). Ebenso behandelte ich das zur Einbettung bestimmte Material bis zur Xylol-anwendung, wie die zur Isolierung bestimmten Fasern. Nach dem Xylol bettete ich entweder in hartes Paraffin, oder in das Schultzesche Kollodiumparaffin ein. (Beim letzteren Verfahren führte ich aber das Material nicht bis zum Xylol, sondern, wie dies Schultze vorschreibt, behandelte es mit 96% Alkohol, Kollodiumalkohol, alsdann mit einem Gemenge von Chloroform-Zedernöl und legte es schliesslich in 48° C. und 58° C. warmes Paraffin ein.¹⁾)

b) Zur Fixation des nicht nach Schultze behandelten Materiales brachte ich in Anwendung: Konzent. Sublimat, 10% Formalin, Formalin-essigsäure (10% Formalin, 5% Essigsäure), Formolalkohol (1 Teil Formol + 2 Teile absol. Alkohol), schliesslich Zenkersche und Regaudsche Lösung. Die Fixierung geschah in zweierlei Art, je nachdem ich in Kontraktion befindliche oder erschlaffte Muskeln untersuchen wollte. Im ersten Falle fixierte ich unmittelbar nach dem Verenden des Tieres, im zweiten erst 1½—3 Stunden nach dem Tode.

In beiden Fällen habe ich die Muskeln nach ihrer Fixierung an ihrer Ursprungs- und Anheftungsstelle mit der ganzen Extremität zusammen fixiert und das zur Einbettung gelangende Stück in 96% Alkohol auspräpariert.

Zur Einbettung benutzte ich auch hier hartes Paraffin, Kollodiumparaffin und ausserdem die Apáthy'sche doppelte Einbettung.²⁾ Dünnere Schnittpräparate als 3 μ konnte ich bei keinerlei Einbettung erreichen. Von den Amphibienlarven erwiesen sich am instruktivsten die 5—6 μ dicken Schnittpräparate, von den Frosch- und Mausmuskeln gelangen die 3—4 μ dicken Serien am besten. Bei dem nach Schultze präparierten und in Kollodiumparaffin eingebetteten Materiale erreichte ich wohl auch 2 μ dünne Schnitte, diese konnte ich aber weit weniger verwenden als die 3 oder 4 μ dicken Präparate.

Die bei der Färbung der Schnitte benutzten Methoden waren die folgenden:

1. Azokarmin-Mallorysche Färbung. Behandlung mit 0.2% wässrigem Azokarmin, destilliertem Wasser, 1% Phosphormolybdänsäure, Mallory, destill. Wasser, 96% und absol. Alkohol, Xylol. Die Muskelfasern färben sich orangerot, das Sarkolemm und die Bindegewebsfasern ultramarinblau, die Kerne dagegen karminrot. Die Q-Streifen sind von roter, die Z-Streifen von blauer Farbe.

2. Neutrale Färbungen nach M. Heidenhain. Die Färbungsmethoden, die Heidenhain als „neutrale Färbungen“ bezeichnete und insbesondere zum Nachweise der Schaltstücke der Herzmuskulatur, oder zur

¹⁾ Archiv f. mikroskop. Anatomie, Bd. 79, Seite 321.

²⁾ Siehe Zeitschrift für wissenschaftl. Mikroskopie, Bd. 29, Heft 4, S. 468—472.

Inversionsfärbung der quergestreiften Muskulatur in Verwendung zog,¹⁾ bewährten sich ganz ausgezeichnet auch bei der elektiven Färbung der Myofibrillen und Sehnenfibrillen. Gemeinschaftlicher Vorteil sämtlicher von mir angewandten Methoden ist, dass die Muskelsubstanz von der Bindegewebssubstanz durch die Färbung scharf abzugrenzen ist und dass die Färbung, wie ich dies an den Präparaten Heidenhains erfuhr, selbst nach Jahren nicht verblasst.

a) Färbung mit Brillantschwarz-Toluidinblau-Safranin (Chromotrop oder Azokarmin), 1% Brillantschwarz (durch $\frac{1}{2}$ —1 Stunde), 1% Toluidinblau-destill. Wasser, Lösung von schwachem $\frac{1}{2}$ —1% Phenolsafranin (resp. Chromotrop oder Azokarmin), solange, bis die Färbung sich differenziert, destill. Wasser, 96% und absol. Alkohol, Xylol.

Die Myofibrillen färben sich rot (je nachdem wir Safranin, Chromotrop oder Azokarmin benutzen: rosenrot, gelblichrot oder karminrot), die Bindegewebsfasern, das Sarkolemm und das Kernchromatin dunkelblau, die achromatischen Nukleoli rot. Die Färbung ist der Azokarmin-Malloryschen Tinktion sehr ähnlich, ihr Vorteil der letzteren gegenüber ist aber, dass die Bindegewebsfasern, namentlich die allerfeinsten Fäserchen, intensiver und ausgesprochenere blaufärbt sind, als in den mit Mallory gefärbten Präparaten.

b) Thiazinbraun-Toluidinblaufärbung. 1% Thiazinbraun (bei 38—40° erwärmt $\frac{1}{2}$ —2 Stunden), destill. Wasser, 1% Toluidinblau. Differenzierung in Methylalkohol, absol. Alkohol, Xylol. Die Muskelfibrillen sind gelber Farbe, die Bindegewebsfasern und das Sarkolemm brauner, die Kerne stahlblauer Farbe.

3. Färbung mit Hämatein²⁾-Pikro-Nigrosin („Blauschwarz B“) nach M. Heidenhain. Mit Hämatein (Apáthysches Hämatein IA oder Delafield'sches Hämatoxylin) die Kerne gefärbt, legen wir die Schnitte durch 5—10 Minuten in Pikro-Nigrosin (letzteres besteht aus 1 gr „Blauschwarz B“ + 400 ccm gesättigter Pikrinsäure + 80 ccm Methylalkohol + 320 ccm destill. Wasser). Nach der Färbung: Destill. Wasser, 96% und absol. Alkohol, Xylol.

Die Muskelfasern färben sich gelb, das Bindegewebe und das Sarkolemm blau, die Kerne stahlblau.

4. Färbung mit Eisenhämatoxylin-Thiazinrot nach M. Heidenhain. 2% Eisensulfat 24 Stunden, $\frac{1}{2}$ % Hämatoxylin-Tinktur 24 Stunden, destill. Wasser, Differenzierung in 2% Eisensulfat, Leitungswasser, $\frac{1}{2}$ % Thiazinrot in wässriger Lösung, destill. Wasser, 96% und absol. Alkohol, Xylol. Dieser Färbung bediente ich mich vorwiegend bei der Untersuchung des Schwindens resp. des Verblässens der Querstreifung. Die Myofibrillen färben sich dunkelblau, das Bindegewebe und Sarkolemm lebhaft rot, die Q-Streifen und das Kernchromatin dagegen schwarz.

¹⁾ Siehe M. Heidenhain: „Über die zweckmässige Verwendung des Kongo und anderer Amidoazokörper, sowie über neue Neutralfarben“ (Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie, Bd. 20, S. 183).

²⁾ Das mit Boraxkarmin in toto gefärbte Material habe ich auch meist mit diesem färberischen Verfahren behandelt. In diesem Falle färbten sich natürlich die Kerne rot.

Ich muss noch bemerken, dass ich die bei der Prüfung dieser Frage so wichtige Vanadiumhämatoxylinfärbung wegen der Schwierigkeiten der Bereitung der Lösung nicht versuchen konnte. Aus besonderer Gefälligkeit Prof. Heidenhains habe ich jedoch seine mit Vanadiumhämatoxylin gefärbten Salamander-Larvenschnitte untersuchen können, ja im glücklichen Besitze zweier solcher prächtiger Präparate konnte ich selbst Abbildungen über dieselben anfertigen.

Die Vanadium-Hämatoxylin-Färbung — wenigstens nach den Heidenhainschen Präparaten beurteilt — bietet entschieden die allerschärfsten und am besten differenzierten Bilder dar. Das Sarkolemm und die Bindegewebsfasern sind koloristisch haarscharf differenzierbar von der blassgelben Muskelsubstanz.

Ergebnis meiner Untersuchungen.

A. Frische und ungefärbt isolierte Präparate. Sowohl bei den frisch untersuchten, wie an den in schwacher Osmiumlösung fixierten und ungefärbt isolierten Fasern überzeugte ich mich alsbald, dass derartige Präparate bei der Entscheidung der Frage nicht in Betracht kommen können. Schon bei Trockenlinsen mittlerer Vergrößerung ist das mikroskopische Bild so dunkel, dass in demselben von einer genaueren Untersuchung feinerer Strukturen, z. B. über die Lage des Sarkolemm, über die Beziehungen der Myofibrillen und Sehnenfibrillen zueinander, keine Rede sein kann. Ahnen kann man noch mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit, dass diese Fädchen hier Myofibrillen darstellen, jene aber Bindegewebsfäserchen sind, doch bestimmt beschreiben können wir selbst diese verhältnismässig gröberen Verhältnisse nicht. Nebstbei ist selbst das Wahrgenommene nicht optisch verlässlich. Derlei ungefärbte und in einem schwach lichtbrechenden Medium, bei stark verengtem Diaphragma untersuchte Präparate geben ausschliesslich Refraktions- und Diffraktionsbilder. Es ist wohl überflüssig, an dieser Stelle des Näheren zu motivieren, dass solche reine Refraktions- und Diffraktionsbilder überhaupt nicht verlässlich sind, wenn von derartigen an der Grenze der mikroskopischen Sichtbarkeit stehenden feinen Strukturen und deren Lage, Dicke und Form die Rede ist.

Ich finde daher kaum etwas Bemerkenswertes über meine derartigen Untersuchungen hervorzuheben. Zwei Tatsachen konnte ich jedoch schon in diesen meinen Präparaten konstatieren: 1. Dass die Muskelfaser mit der Sehne faktisch in sehr engem Konnex steht. 2. Dass die Übergangsstelle der Muskelfaser und der Sehne immer dunkler und verwaschener erscheint, als die Muskelfaser

oder die Sehne selbst. Ich empfang den Eindruck, als ob an dieser Stelle das Ende der Muskelfaser durch irgend ein dichtes Netz dicker und widerstandsfähiger gemacht würde.

B. Isolierte und gefärbte Präparate. Auch mit den nach Schultze in Formolalkohol isolierten, mit Chromhämatoxylin-Rubin gefärbten und nach v. Froriep in salicylsaurem Alkohol isolierten, mit Hämatein-Rubin gefärbten Präparaten konnte ich kein grösseres Resultat erreichen. Ich darf wohl hervorheben, dass meine Präparate als isolierte Präparate genügend gelungen sind. Sie haben aber den grossen Übelstand, dass sie gerade beim Übergang der Muskelfasern in die Sehne den Dienst versagen. Gerade an der allerwichtigsten Stelle ist die Lage der Fibrillen, ihr Verlauf und ihre gegenseitigen Beziehungen zueinander nicht mit entsprechender Schärfe und Bestimmtheit wahrnehmbar. Gleichgültig ob ich Chromhämatoxylin allein oder Hämatein, ferner auch Doppelfärbung anwandte, stets färbte sich die Muskel-Sehnengrenze dunkler, was die Unterscheidung der Muskel- und Sehnenfibrillen sehr erschwerte. Die Erklärung dieser Erscheinung fand ich darin, dass an dieser Stelle ein sehr dichtes Bindegewebsnetz die Muskelfaser einhüllt. An jeder Faser, die mir in Kontinuität mit der Sehne zu isolieren gelang, fand ich, dass das Ende der Muskelfaser teils durch abgerissene, teils durch mit der Sehne zusammenhängende Fäserchen bedeckt ist, welche die Faser mit einem unregelmässig angeordneten, doch stets sehr dichten Netze umgeben. Da wir aber an isolierten Präparaten die Faser in ihrer Plastizität untersuchen, projizieren wir die ihre Oberfläche bedeckenden Bindegewebsfibrillen auf die Muskelfibrillen. Das Schema Abb. I veranschaulicht dieses Phänomen.



Fig. I.

Schema einer isolierten Muskelfaser von seitwärts betrachtet. O = vordere, U = hintere Oberfläche; m = Myofibrille; f = Bindegewebsfibrille; E = optische Ebene; d = die stark eingestellte Partie der f-Fibrille in der optischen Ebene E.

Die Muskelfaser ist an demselben von der Seite aus betrachtet sichtbar. An beiden Oberflächen (O und U, vordere oder rückwärtige, obere oder untere Oberfläche) schmiegt sich je eine Fibrille des bindegewebigen Netzes (f-f) der Muskelfaser an. Gemäss der Gestalt des Faserendes konvergieren diese Fibrillen nach abwärts und vereinigen sich zu einer Sehnenfaser. Wenn ich diese Faser mit ihrer Oberfläche O nach oben untersuche und das Bild derart scharf einstelle, dass die Querstreifung der M-Muskelfibrille scharf sichtbar wird (in der E-Ebene), so wird nun die d-Partie der f-Fibrille ebenfalls scharf eingestellt und erscheint förmlich als Fortsetzung der Muskelfibrille, der übrige, nicht scharf eingestellte Teil projiziert sich aber allmählich verwischt auf die Myofibrille. Auch aus diesem Schema erhellt, wie leicht das mikroskopische Bild der isolierten Faser hinsichtlich des Zusammenhanges der Muskelfibrillen und Sehnenfibrillen zu groben Täuschungen Anlass geben kann. Nehmen wir noch hinzu, dass im Präparate nicht nur eine Fibrille, sondern ein dichtes Netz derselben vorhanden ist, dass daher die bindegewebigen Fibrillen sich miteinander verweben, ineinander übergreifen, sich gegenseitig decken, so wird es nach meinem Dafürhalten verständlich, dass aus einem solchen Präparate über die Beziehungen der Muskel- und Sehnenfibrillen — namentlich bei nicht genügend scharfer und elektiver Färbung — kein pünktlicher und verlässlicher Aufschluss zu erhalten ist. Aus den isolierten Präparaten vermögen wir daher nur mit möglicher und wahrscheinlicher Genauigkeit etwas herauszulesen. Es besteht kein Zweifel, dass derlei Präparate in einer bestimmten Richtung unsere Untersuchung zu ergänzen imstande sind, so z. B. erlauben sie zu konstatieren, dass das Ende der Muskelfaser von einem reichen bindegewebigen Netz bedeckt ist. Sobald aber von feineren Verhältnissen die Rede ist, lassen sie einen breiten Spielraum zu subjektiven Annahmen frei, das mikroskopische Bild erlaubt sozusagen willkürliche Annahmen und ändert sich der Dialektik des Untersuchers gemäss, nicht aber nach den Strukturen seines Inhaltes.

C. Untersuchung der Schnittpräparate. Verlässliches Prüfungsmaterial zur Untersuchung der Beziehungen der Muskel- und Sehnenfibrillen fand ich in entsprechend dünnen und mit passend elektiven Färbungen hergestellten Schnittpräparaten. Anlangend die Dicke der Schnitte, glaube ich, dass es nicht gerade

notwendig ist, uns an $2\ \mu$ dicke Präparate zu binden. Brauchbar sind allenfalls nur dünne Schnittpräparate ($2-7\ \mu$), damit die Färbung gut differenzierend, das Bild selbst bei stärkster Vergrößerung gut beleuchtbar und die Lage der einzelnen Linien genau zu bestimmen sei. Diesen Bedingungen entsprechen, der Natur des Materiales gemäss, verschieden dicke Schnitte. So erwiesen sich von den Amphibienlarven $3\ \mu$ dicke Schnittserien um nichts besser, als die Schnittpräparate von einer Dicke von $5-6\ \mu$. Andererseits sind bei der Maus, bei welcher die Muskelfibrillen sehr dicht nebeneinander und übereinander liegen, nur sehr dünne Schnittpräparate zur Untersuchung geeignet. Auch hier ist nicht unbedingt die von Schultze vorgeschriebene Dicke von $2\ \mu$ notwendig, einfach deshalb nicht, weil in einem $4-5\ \mu$ dicken Schnittpräparate die Durchschnitte der Muskelfasern nicht gleichmässig dick sind. Die Dicke des Durchschnittees ist nicht notwendigerweise adäquat der Dicke der in demselben befindlichen Muskelfasern, da dieselben nicht in einer Ebene liegen und deshalb in dünnerer oder dickerer Menge in die Schnittebene zu liegen kommen. Sehr dünne Schnitte sind nicht nur deshalb nicht angezeigt, weil ihre Darstellung übermässig viel Mühe oder eventuell ein besonderes Instrument (Mayersches Tetraedermikrotom) beansprucht, sondern in erster Linie deshalb, weil sie für die Entscheidung unserer Frage nicht genügend orientieren. Es ist unbedingt notwendig, dass man konstatieren kann, was an der Oberfläche der Muskelfaser liegt, was in deren Innerem ist und inwiefern das mikroskopische Bild durch die die Oberfläche bedeckenden Strukturen, worauf schon die isolierten Präparate unsere Aufmerksamkeit lenkten, beeinflusst wird. An isolierten Fasern, an welchen die Muskelfaser in ihrer Plastizität untersucht werden kann, gelang es aus den oben geschilderten Gründen nicht, diese Fragen zu entscheiden. Andererseits leiden die Schultzeschen $2\ \mu$ dicken Schnitte am entgegengesetzten Fehler, sie sind nämlich übermässig dünn. An derlei $2\ \mu$ dicken Schnittpräparaten ist es schwer kontrollierbar, ob ein Punkt nicht eventuell Querschnitt eines Fäserchens ist, ob eine Faser, die mit der Myofibrille verschmilzt, bei höherer oder tieferer Einstellung sich nicht gegen eine Myofibrille neigt, mit einem Worte, bei so dünnen Schnittpräparaten können wir die wahre plastische Form und räumliche Einrichtung der Strukturen nur schwer und unvollständig rekon-

struieren, selbst beim Vorhandensein von lückenlosen Schnittserien. Die für die Untersuchung geeignetste Dicke der Schnitte müssen wir daher zwischen der Dicke der isolierten Fasern und der der $2\ \mu$ dünnen Schnittpräparate finden. Allenfalls sind dünne Schnitte notwendig, wegen der Reinheit der Färbung und Schärfe der Bilder, doch benötigen wir keineswegs die allerdünnsten Schnitte.

Nun will ich auf die Beschreibung der aus der Untersuchung meiner Schnittpräparate gewonnenen Resultate übergehen. Meine Beobachtungen teile ich in drei Gruppen. In die erste Gruppe gehören jene, die für die Kontinuität der Myo-Sehnentfibrillen zu sprechen scheinen. Der zweiten Gruppe reihe ich jene ein, die ganz entschieden gegen die Kontinuität der Muskel-Sehnentfibrillen sprechen. Die dritte Gruppe endlich wird von jenen Fällen gebildet, die bei oberflächlicher Untersuchung für die Kontinuität, bei eindringlicher Prüfung hingegen gegen die Kontinuität beweisen.

I.

Für die Kontinuität der Muskel-Sehnentfibrillen sprachen entschieden diejenigen Präparate, die ich nach der Schultze'schen Technik hergestellt habe. Diese mit Formol-Alkohol fixierten, mit Chromhämatoxylin-Rubin gefärbten, $2\ \mu$ dicken Schnitte gaben die gleichen Bilder, wie sie Schultze und Loginow beschreiben.

Die Fig. 1 stellt eine nach Schultze behandelte Muskelfaser vor. Am Ende der Muskelfaser fehlt das Sarkolemm und die Muskelfibrillen oder Fibrillenbündel scheinen sich unmittelbar in die welligen Sehnenfibrillen fortzusetzen.

II.

Demgegenüber widerspricht ganz entschieden der Theorie Schultzes der grösste Teil der mit elektiver Bindegewebsfärbung behandelten Präparate. Am schönsten konnte ich an der Muskulatur der Amphibienlarven, aber ganz gut auch an den Muskelfasern des Frosches und der Maus folgendes beobachten: 1. dass das Ende der Muskelfaser vom Sarkolemm begrenzt wird; 2. dass das Sarkolemm immer ebenso gefärbt erscheint wie die bindegewebigen Fädchen; 3. dass aus dem Sarkolemm bindegewebige Fibrillen entstehen, welche ein Netz oder ein Geflechte bilden und am Ende der Muskelfaser sich in Sehnenbündel fort-

setzen. In den meisten Fällen vermochte ich genau festzustellen, dass die Sehnenfasern nicht aus dem Innern der Muskelfasern, sondern nur aus dem Sarkolemm entspringen. Wohl ist es wahr, dass in den meisten Fällen das Sarkolemm, insbesondere in der wenig Perimysium enthaltenden Muskulatur am Ende der Muskelfaser ausserordentlich dünn und eben deshalb nur mit spezifischer Färbung (Vanadium-Hämatoxylin, Mallory, „neutrale“ Färbungen) nachweisbar ist; bei guter Fixation und entsprechender Färbung jedoch ist dasselbe in einer jeden Zweifel ausschliessenden Weise scharf und in nicht unterbrochenem Zustande nachweisbar. Die Figuren 2, 3, 5, 6, 9, 10, 11 und 15 veranschaulichen an verschiedenem Material, bei verschiedener Färbung derlei durch das Sarkolemm scharf abgegrenzte Endigungen der Muskelfaser.

Als typisch bezeichne ich die in den Fig. 2 und 3 sichtbaren Muskelendigungen. Diese fand ich regelmässig am häufigsten in den am besten fixierten, am genauesten geschnittenen und gefärbten Schnitten und am gleichmässigsten erschlafften Fasern und deswegen ist nach meinem Dafürhalten die Endigung der Muskelfaser und deren Verbindung mit den Sehnenfibrillen an in vollkommenem Ruhezustande befindlicher, normal gestalteter Muskelfaser nach einwandfreier technischer Bearbeitung so beschaffen, wie in diesen Bildern dargestellt.

III.

Des öfteren finden wir jedoch vom typischen abweichende Faserendigungen, an welchen entweder das Sarkolemm fehlt oder, wenn am Ende der Muskelfaser das Sarkolemm auch vorhanden ist, dieses scheinbar durchbohrt wird und die Muskelfibrillen in Sehnenfibrillen sich fortzusetzen scheinen. Den Mangel des Sarkolemmes können wir allenfalls mit einem Kunstfehler erklären. Zu beschuldigen ist entweder die Fixierung oder die Färbung, eventuell die Schnittführung, wenn am mikroskopischen Bilde das Sarkolemm fehlt. Die scheinbare Kontinuität der Myofibrillen und Sehnenfibrillen zwingt aber zu einer gründlicheren Überlegung, denn entweder liegt hier im Sinne Schultzes eine wirkliche Kontinuität der Muskel- und Sehnenfibrillen vor, und müssen wir dann erklären, wie es möglich ist, dass bei dem allergrössten Teil der Muskelfasern die Myofibrillen von den Sehnenfibrillen durch das Sarkolemm abgegrenzt werden, in Ausnahmefällen aber die Myo-

fibrillen unmittelbar in die Sehnenfibrillen sich fortsetzen, oder müssen wir nur eine scheinbare Kontinuität annehmen und die Gründe aufdecken, welche diesen scheinbaren Zusammenhang hervorrufen.

In der Fig. 4 bilde ich die Muskelfaser einer Salamanderlarve ab, welche, von der elektiven Bindegewebsfärbung abgesehen, ungefähr dieselben Verhältnisse darbietet, wie ein nach Schultze gefärbtes Präparat. Am Ende der Muskelfaser ist kein Sarkolemm sichtbar und die Muskelsäulen setzen sich unmittelbar in Sehnenfibrillen (a, b, c, d) fort. Auch das ist zu beobachten, dass dieser Übergang stufenweise vor sich geht. Die Querstreifung verblasst gegen das Ende der Muskelfaser, um alsbald vollständig aufzuhören, und diese der Querstreifung entbehrenden Partien setzen sich ohne sichtbare Grenze in die Sehnenfibrillen fort. Dementsprechend geht die gelblichrote Farbe der Muskelsubstanz in braunviolette über und verschmilzt immer mehr mit der charakteristischen blauen Farbe der Bindegewebsfasern.

Dieser scheinbare Beweis der Kontinuität bietet jedoch sofort ein anderes Bild dar, wenn ich das Präparat schon nur bei einer $\frac{1}{2} \mu$ tieferen oder höheren Einstellung prüfe. In Fig. 4a habe ich dieselbe Faser bei einer beiläufig $\frac{1}{2} \mu$ tieferen Einstellung abgezeichnet. Hierbei ist mit voller Bestimmtheit zu konstatieren, dass die Sehnenfibrillen a, b, c, d nicht aus den Muskelsäulen, sondern aus dem an der Oberfläche der Muskelfaser liegenden Netze ihren Ursprung nehmen. Hieraus und aus ähnlichen anderen Fällen ging hervor, dass, insofern bei einer bestimmten Einstellung die Muskelfibrillen in Sehnenfibrillen sich fortzusetzen scheinen, wir stets durch eine tiefere oder höhere Einstellung das die Oberfläche bedeckende Netz suchen müssen, aus dem die Sehnenfibrillen ihren Ursprung nehmen. Und faktisch finden wir in sehr vielen Fällen dieses Netz, wie dies die Fig. 4 und 4a zeigen. Das allmähliche, stufenweise Schwinden der Querstreifung, die Verschmelzung der Farbe der Myofibrillen mit der der Sehnenfibrillen ist ebenfalls nur eine Folge der nicht entsprechenden Einstellung. Die Muskelfaser erscheint in $4-5 \mu$ dicken Schnittpräparaten (wie in den Fig. 4 und 4a) noch ziemlich plastisch und an ihrem Ende um vieles dünner und schmaler als oberhalb des Endes. Das Faserende ist daher scharf nur bei tieferer Einstellung zu untersuchen, der oberhalb des Endes befindliche Teil ist dicker

und beansprucht eine höhere Einstellung. Wenn ich nunmehr das Präparat derart einstelle, dass die Muskelsäulen und die Querstreifung schärfer in die Erscheinung treten sollen, so stelle ich meist den oberhalb des Endes befindlichen Teil ein (Fig. 4) und so kommt das kegelförmig sich verengende Endstück nicht genau in die optische Bildfläche zu liegen. Deshalb sehen wir an dieser Stelle die Sehnenfibrillen mit den Muskelfibrillen verschmolzen und so entsteht das Bild, als ob die Farbe der Muskelsubstanz mit der Farbe des Bindegewebes allmählich verschmelzen und die Querstreifung stufenweise aufhören würde.¹⁾

Einen anderen Fall der scheinbaren Kontinuität der Muskel- und Sehnenfibrillen stelle ich in der Fig. 7 dar. Es ist dies ein 3 μ dicker Schnitt einer Froschmuskelfaser, fixiert in Formol-Alkohol, gefärbt mit Azokarmin-Mallory. Am Ende der Muskelfaser finden wir kein Sarkolemm (wenigstens bei erster Betrachtung nicht). Das ganze Bild entspricht jenen Illustrationen, die Schultze und Loginow zur Erweisung der Kontinuität bei ihren mit Chromhämatoxylin-Rubin gefärbten Präparaten lieferten. Die Muskelsäulen endigen tiefer oder höher und aus jeder entspringt eine bindegewebige Fibrille, die in das massive Bindegewebe der Sehne, mit diesem verschmelzend, übergeht. Es ist zu konstatieren, dass diese Sehnenfibrillen nicht genau aus dem Ende der Muskelsäulen, sondern eher aus deren Seiten ihren Ursprung nehmen, oder richtiger erweckt es den Anschein, als ob eine

¹⁾ Das Verblässen und Schwinden der Querstreifung ist an den Endabschnitten der Muskelfibrillen tatsächlich wahrnehmbar und dieses Phänomen hat Heidenhain im „Plasma und Zelle“, Bd. II, ausführlich beschrieben und durch die Abbildungen 393 und 394 dargestellt. Der Schwund der Querstreifung und die Partien ohne Querstreifung haben aber keine Beziehung zu den Sehnenfibrillen, sondern spielen, wie dies Heidenhain annimmt, wahrscheinlich beim Längenwachstum der kontraktilen Substanz eine Rolle. Während meiner Untersuchungen wandte ich dem Aufhören der Querstreifung meine besondere Aufmerksamkeit zu und fand, dass dieses Vorkommnis selbst an den benachbarten Muskelfibrillen ein und desselben Präparates differiert. An sehr vielen Fasern sind die Fibrillen bis zum Sarkolemm quergestreift (Fig. 5), an anderen finden wir verhältnismässig lange Endpartien ohne Querstreifung (Fig. 6). Bereits aus dieser Tatsache muss ich den Schluss ziehen, dass die ungestreifte oder gestreifte Beschaffenheit des Fibrillenendes von physiologischen oder embryologischen Faktoren abhängig ist, keinesfalls wohnt ihr aber jene Bedeutung inne, die ihr Schultze zuschreibt.

feine Bindegewebsmembran das Ende der Muskelsäule handschuhfingerartig bedecken würde und die Sehnenfibrille eine Fortsetzung derselben wäre.

In diesem Falle mussten wir vor allem aufklären, ob die Sehnenfibrillen tatsächlich aus den Muskelsäulen ihren Ursprung nehmen, oder ob wir auch hier nur eine Projektion auf die Muskelsäulen seitens der oberhalb oder unterhalb derselben liegenden Fibrillen vor uns haben. Diese Frage vermögen wir rasch zu entscheiden.

Diese Bindegewebsfibrillen kommen tatsächlich mit den Enden der Muskelsäulen in eine optische Ebene zu liegen. Bei höherer oder tieferer Einstellung konnten wir auch hier an der Muskelfaser oberflächlich gelagerte Fädchen beobachten, diese waren aber in keiner nachweisbaren Verbindung mit den abgezeichneten Sehnenfibrillen. Es handelt sich daher hier nicht um einen ähnlichen Fall scheinbarer Kontinuität der Muskel-Sehnenfibrillen, wie bei der in den Abb. 4 und 4a dargestellten Faser, denn die Bindegewebsfibrillen liegen hier tatsächlich in der Muskelfaser, eng neben den Muskelsäulen. Anlangend die Ursache des Sarkolemmangels stand die Annahme auch hier am nächsten, dass die Behandlung an ihrem Fehlen die Schuld trägt. Das Material wurde in Formolalkohol (1 Teil Formol + 2 Teile Alkohol) fixiert; dieses hat als Fixierungsmittel den Nachteil, eine starke Schrumpfung zu bewirken. Nicht nur an dieser Faser, sondern am ganzen Präparate, an den Zellkernen, am Sarkoplasma, Perimysium, mit einem Worte überall, fiel die ausgesprochene Schrumpfung auf. Demgegenüber bot der gleiche Froschmuskel (*M. palmaris longus*) der entgegengesetzten Seite, mit Regaudscher Lösung behandelt, bei derselben Dicke und Färbung der Schnitte ein wesentlich anderes Bild dar. Den Unterschied stellt die Fig. 8 dar. Diese mittelst „Regaud“ fixierte Muskelfaser endigt ebenso spitz, wie die Faser der Fig. 7, ja selbst ihre Lage ist übereinstimmend, da bei beiden die kompakten Bündel der Sehne gerade neben dem Ende der Faser verlaufen. Es fällt aber auf, dass die Muskelfasern kompakter, die Muskelsäulen gerader, paralleler nebeneinander liegend sind, und so weist das mikroskopische Bild dieser Faser, wie des ganzen Präparates auf eine viel entsprechendere Fixierung hin, als das der in Formolalkohol fixierten Präparate. Und an derart fixierten Präparaten — wie dies auch die Fig. 8 zeigt — ist das Sarkolemm

am Ende der Muskelfasern mit entsprechenden Färbungen fast immer scharf nachzuweisen.

Nicht nur in diesem Falle, sondern fast immer im Laufe meiner Untersuchungen erfuhr ich, dass während bei dem Gebrauche der eine starke Schrumpfung bewirkenden Fixierungsmittel, so in erster Linie der von Schultze und Loginow mit Vorliebe benutzten starken Formol- und Formolalkoholfixierung, das Sarkolemm an den Enden der Muskelfasern oft fehlt, ist nach Gebrauch der von mir verlässlicher gefundenen „Subtrie“, Zenker- und Regaudschen Lösungen bei entsprechender Färbung fast bei jeder Muskelfaser am Ende derselben das ununterbrochene Sarkolemm nachweisbar. Auf Grund dieser Überlegung muss ich daher auch an der Muskelfaser in Fig. 7 das Schwinden des Sarkolemm's der stark schrumpfenden Wirkung des Fixationsmittels zuschreiben.

Wiewohl ich den Mangel des Sarkolemm's in dieser Weise ursächlich erklären kann, habe ich die Frage, ob die in der Fig. 7 und 8 sichtbare Kontinuität der Myofibrillen und Sehnenfibrillen eine tatsächliche oder nur scheinbare, eine auf optische, physiologische oder technische Gründe zurückführbare Erscheinung sei, überhaupt noch keiner Besprechung unterzogen. Dass hier keine solche optische Täuschung obwalten kann, wie im Falle der Fig. 4 und 4a, habe ich oben bereits erwähnt. Was aber die mikrotechnischen Ursachen betrifft, ist es wohl wahr, dass die Faser der Fig. 7 nicht verlässlich fixiert ist, die unmittelbare Verbindung der Muskelsäulen und Sehnenfibrillen ist aber überhaupt nicht in Zusammenhang zu bringen mit der Art der Fixation, denn an der Muskelfaser der besser fixierten Fig. 8 sind trotz der scharfen Sarkolemmgrenze auch an der Seite der Muskelsäulen, innen in der Muskelfaser feine bindegewebige Fibrillen sichtbar, die wie von hier ausgehend und das Sarkolemm durchbohrend, sich in Sehnenfibrillen fortsetzen. Die allereinfachste Erklärung dieses Bildes würde tatsächlich durch die Schultzesche Theorie ermöglicht werden. Dieser Erklärung aber widerspricht nicht nur der Umstand, dass in diesem Falle zwei Arten des Ursprunges der Sehnenfibrillen anzunehmen wären, sondern in erster Linie die Tatsache, dass bei eingehender Untersuchung Verhältnisse im Präparate selber zu finden sind, die sich mit der Theorie Schultzes nicht decken, vielmehr derselben geradezu zuwiderlaufen.

Wenn wir die Fig. 8 aufmerksam betrachten, können wir konstatieren, dass jene Bindegewebsfibrillen, welche von den Muskelsäulen zu entspringen scheinen und die ich der Kürze halber in der Folge als interkolumnäre Fäserchen¹⁾ bezeichnen will, eine verschiedene Länge und Dicke aufweisen und in verschiedener Beziehung zu den unter dem Ende der Muskelfaser liegenden Sehnenfibrillen stehen. Wenn sie tatsächlich aus Myofibrillen entspringende Sehnenfibrillen wären, wie erklärt es sich, dass einzelne (β , γ) tief in der Muskelfaser und gleich als starke, dicke Fibrillen entstehen, während andere (c, d) sehr kurze feine Fibrillen sind. Wir können auch ersehen, dass die interkolumnäre Fibrille α in der Muskelfaser spitz beginnt und durch das Sarkolemm unmittelbar in eine Sehnenfibrille sich fortsetzt. Die Fibrillen β und γ nehmen dagegen mit abgestumpftem Ende ihren Ursprung und setzen sich nicht in je eine Sehnenfibrille, sondern in je einen Knäuel von Sehnenfibrillen fort. Bei den Myofibrillenbündeln c und d hingegen besteht überhaupt kein regelmässiger Zusammenhang zwischen den interkolumnären Fasern und den Sehnenfibrillen. Stellenweise sind die Sehnenfibrillen unmittelbare Fortsetzungen der interkolumnären Fädchen (d), an anderen Stellen dagegen nehmen sie zwischen den interkolumnären Fädchen, am Sarkolemm ihren Ursprung.

Die Ursache der Differenzen zwischen den interkolumnären Fäserchen liegt darin, dass die Gebilde, welche im mikroskopischen Bilde wegen ihrer ähnlichen Form und Färbung als einförmige, gleichgestaltete Fädchen erscheinen und die ich deshalb gemeinschaftlich „interkolumnäre Fibrillen“ bezeichnete, in Wirklichkeit Gebilde verschiedener Abstammung und Bedeutung sind. So kann man vom α -Fädchen nachweisen, dass dieses die projizierte Partie einer unter der Muskelfaser liegenden bindegewebigen Fibrille in die Muskelfaser ist. Bei tieferer Einstellung ist es an der Oberfläche der Muskelfaser in ein bindegewebiges Netz zu verfolgen; die mit ihm in Verbindung stehende Sehnenfibrille stellt tatsächlich eine Fortsetzung desselben dar.

Die interkolumnären Fibrillen β und γ besitzen schon eine ganz andere Bedeutung. Dieselben sind nämlich nichts anderes

¹⁾ Interkolumnär nenne ich sie deshalb, weil sie tatsächlich nicht an das Ende der Muskelsäulen, sondern an die Seite derselben und zwischen die Muskelsäulen zu liegen kommen.

als die zwischen die Muskelsäulen oder Myofibrillenbündel eingekeilten Falten des Sarkolemm.

Am Ende der Muskelfaser endigen die Muskelsäulen nicht in einer Linie: Das Muskelsäulenbündel a endigt höher, b tiefer, c am tiefsten, d viel höher und e am allerhöchsten. Das b-Bündel entfernte sich ausserdem sowohl vom a-, als vom c-Bündel. Dem entsprechend stülpt sich nun das Sarkolemm, das eng das Ende der Muskelsäulen bedeckt, sowohl zwischen die Bündel a und b, als b und c ein und auf diese Weise entstehen Sarkolemmduplikaturen oder Falten, welche die gegenüberliegenden Seiten der Muskelsäulen oder Myofibrillenbündel bedecken. Diese Erscheinung können wir auch an anderen Muskelfasern häufig beobachten und entstehen derlei Sarkolemmfalten immer infolge der Zickzackform der Muskelendigung.

Das Schema Fig. II erklärt die Entstehung dieser Sarkolemm-Einstülpungen.

In der Faser A liegen die in verschiedener Höhe endigenden Muskelsäulen in ziemlich grosser Entfernung (t) voneinander, so dass vom Ende der einen Muskelsäule zum Ende der anderen die Einstülpung (r) des Sarkolemm ganz gut zu verfolgen ist. Sobald aber diese Entfernung zwischen den Muskelsäulen eine minimale wird, sehen wir die Einstüpfungsfalte des Sarkolemm nicht als Dupplikatur, sondern in Gestalt einer dicken Fibrille, wie dies die Muskelfaser B demonstriert. Diesem Schema entsprechende Verhältnisse finden wir auch in der Abb. 8. Die Entfernung zwischen den Bündeln b und c ist gross genug dazu, um eine Beobachtung der Umbiegung des Sarkolemm vom Bündel b auf c zu ermöglichen. Zwischen den Bündeln a und b ist die Entfernung um vieles geringer, nebstbei ist an einem Punkte das Sarkolemm von der Seite des a-Bündels, am anderen Punkte vom b-Bündel

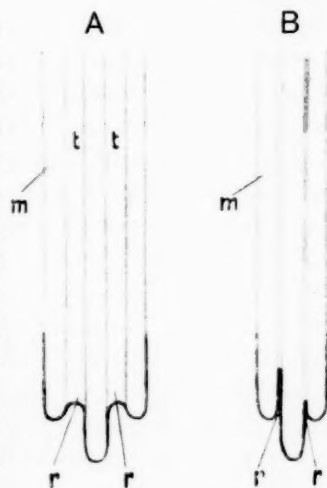


Fig. II.

m = Myofibrille; t = interfibrillärer Zwischenraum; r = Einstüpfungsfalten des Sarkolemm.

losgelöst, so dass hier die zwei Lamellen der Sarkolemmfalte verklebt sind und im mikroskopischen Bilde als dicke Fibrille in die Erscheinung treten. In der Fig. 15 ist an einer Muskelfaser der Maus ebenfalls eine solche Sarkolemm-Einstülpung bei a sehr gut wahrnehmbar.

Wir sehen daher, dass die sog. interkolumnären Fibrillen, welche den Anschein der Kontinuität der Muskel-Sehnensfibrillen erwecken, teils an der Oberfläche der Faser liegende projizierte Bindegewebsfibrillen, teils SarkolemmEinstülpungen sind. Hiermit haben wir aber noch immer nicht die Frage vollständig gelöst, denn es existieren immer noch interkolumnäre Fibrillen, für die weder die eine, noch die andere Erklärung zutrifft.

Derlei Fibrillen sind die in Fig. 8 am Ende der Myofibrillen c, d und e liegenden kurzen Fibrillen und die Fibrille d. Auch von diesen könnten wir annehmen, dass sie ebenfalls Sarkolemm-Einstülpungen sind. Ganz entschieden kann nämlich konstatiert werden, dass diese sämtlichen Fibrillen mit dem Sarkolemm in engem Zusammenhange stehen. Trotzdem gibt der Umstand zu denken, dass hier zwischen den Enden der Muskelsäulen nicht so eine Differenz besteht und keine solche Entfernung zwischen den einzelnen Muskelsäulen vorhanden ist, die die Einstülpungen des Sarkolemm verständlich machen würde.

Schon bei oberflächlicher Betrachtung ist die Ähnlichkeit zwischen den Einstülpungen und den sog. Festonen an dieser Stelle auffallend.

Wie bekannt, entstehen die Festone an kontrahierten Muskelfasern dadurch, dass das Sarkolemm bei den Grundmembranen (Kraus'sche Membran, Telophragma) fixiert ist, und während zwischen diesen das Sarkolemm dem Drucke der sich verkürzenden Muskelfaser nachgibt und sich vorwölbt, springt es an den fixierten Punkten ein wenig nach innen vor. Betrachten wir nunmehr, ob nicht etwa am Ende der Muskelfaser solche strukturelle Bedingungen und physiologische Verhältnisse obwalten, die derlei festonartige Einstülpungen des Sarkolemm hervorrufen können.

Am Ende der Muskelfaser haftet das Sarkolemm nur den Enden der Muskelsäulen oder Myofibrillen und der interfibrillären Substanz an. Dem Sarkolemm aber liegt, wie ich dies bisher schon oft hervorhob und in der Folge noch ausführlicher beweisen werde, ein sehr dichtes Bindegewebsnetz an. Dieses Netz hängt

sehr innig mit dem Sarkolemm zusammen, so dass ich wohl die Behauptung aufstellen kann, dass das, was wir an den Präparaten als Sarkolemm bezeichnen, eigentlich in den meisten Fällen nichts anderes ist, als ein Durchschnitt dieses dichten Bindegewebsnetzes. In der „Internationalen Monatsschrift für Anatomie und Physiologie“, Bd. 29, tritt Bruno Griesmann in seiner Arbeit „Über die fibrilläre Struktur des Sarkolemm“ mit überzeugenden Gründen für die fibrilläre Struktur des Sarkolemm ein, die auch Pappenheim nachgewiesen hat. Griesmann weist mit spezifischen, besonderen Färbungen (nach Woronin und Traina) nach, dass das was v. Froriep für eine Hyalinmembran und die Mehrzahl der Lehrbücher für eine Zellmembran oder ein basalmembranartiges Gebilde hält, in Wirklichkeit aus einem dichten Netze von bindegewebigen Fibrillen besteht.

Auf Grund meiner eigenen Beobachtungen teile ich vollkommen die Auffassung Griesmanns. Tatsächlich fand ich überall im Sarkolemm ein sehr dichtes Bindegewebsnetz, welches aber an und für sich noch nicht das Sarkolemma selbst ist. Die Maschen des Netzes werden von einer sehr feinen, mit Azokarmin-Mallory blassblau sich färbenden strukturlosen Grundsubstanz ausgefüllt und deshalb bin ich der Meinung, dass das Sarkolemm aus zwei Bestandteilen besteht, und zwar aus einer homogenen, hyalinen Membran (die eventuell einer Zellhaut oder einer Basalmembran entspricht) und aus einem dichten bindegewebigen Netze. Für unsere gegenwärtige Untersuchung ist es von nebensächlicher Bedeutung, ob die Bindegewebsfasern sich aus der hyalinen Membran herausdifferenzieren, oder aus dem Perimysium in das Sarkolemm einwachsen. Tatsache ist, dass das Netz aus fadenartigen Bindegewebsfibrillen besteht, die sich an der Seite der Muskelfaser in Perimysiumfasern, am Ende der Muskelfaser aber in Sehnenfibrillen fortsetzen.

Ich muss noch hervorheben, dass zwischen den Fibrillen des Sarkolemm-Netzes ein wesentlicher Unterschied besteht. Ein grosser Teil derselben ist sehr fein, an der Grenze der mikroskopischen Sichtbarkeit stehend; diese Fädchen tingieren sich sehr blass, bilden ein sehr dichtes Netz und gehören am innigsten dem Sarkolemm an. (Wahrscheinlich wurden diese von Pappenheim und Griesmann als fibrilläre Struktur des Sarkolemm beschrieben und abgebildet.) Zwischen diesen und wahrscheinlich

oberhalb derselben liegen dickere, sich schärfer färbende bindegewebige Fibrillen. Auch diese sind innig mit dem Sarkolemm verwachsen, kommen in geringerer Anzahl vor und bilden ein weitmaschigeres Netz. Vorwiegend diese dickeren Fibrillen setzen sich in das Perimysium oder in die Sehnenfibrillen fort, während die Fäden des feineren Netzes sich eher auf die Oberfläche der Muskelfaser beschränken (siehe die Fig. III, IV, V, VI, VII).

Die fibrilläre Struktur des Sarkolemm oder, genauer ausgedrückt, das Vorhandensein des bindegewebigen Netzes des Sarkolemm, hat entscheidende Bedeutung bei der Erklärung der Kontinuität der Muskelfasern und Sehnenfibrillen. Sie gewährt eine natürliche und ungezwungene Erklärung über den Ursprung der Sehnenfibrillen und über den innigen Zusammenhang zwischen Muskelfaser und Sehnen, und erklärt einheitlich jene Bilder, an denen zwischen Muskelfibrillen und Sehnenfibrillen kein Zusammen-



Fig. III.



Fig. IV.



Fig. V.

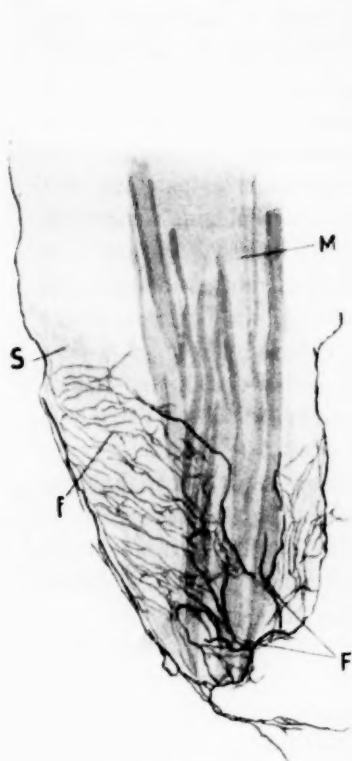


Fig. VI.

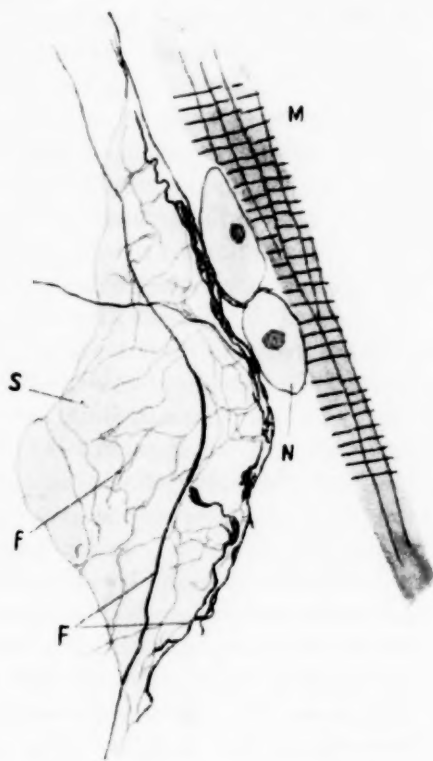


Fig. VII.

Fig. III—VII. Das Sarkolemm-Netz.

Fig. III—V. Tangential getroffene Sarkolemm-Partien am Rande der Muskelfasern. Fig. VI. Sarkolemm am Ende einer stark geschrumpften Muskelfaser. Fig. VII. Ein von der Muskelfaser abgerissene und auf seine Fläche gewendete Sarkolemmpartie. S = Grundsubstanz, f = feineres, F = gröberes Fibrillennetz, M = Muskelfaser, N = Kern.

hang sichtbar ist, und jene, an denen eine scheinbare Kontinuität wahrnehmbar ist.

Wir kehren nunmehr zur Fig. 8 zurück, an der wir die Natur der auf den Territorien c, d und e befindlichen interkolumnären Fibrillen bislang noch nicht bestimmt haben. Ausgehend von der Ähnlichkeit, die zwischen dem Verlauf des das Ende der Muskelfaser bedeckenden Sarkolemm und den sog. Festonen wahrzunehmen ist, haben wir die Frage aufgeworfen, ob auch am Ende der Muskelfaser derlei, durch die Funktion der Muskelfaser hervor-

gerufene Sarkolemm-Einstülpungen oder Hervorwölbungen entstehen können, wie die Festone. Zur Entwicklung von solchen festonartigen Gebilden sind zwei Faktoren notwendig: 1. dass das Sarkolemm stellenweise fixiert sei, 2. dass die Muskelfaser von innen einen Druck auf das Sarkolemm ausübe.

Im bindegewebigen Netz des Sarkolemm fand ich den Faktor, der am Ende der Muskelfaser das Sarkolemm wenigstens in einem bestimmten Grade stellenweise fixiert. Die starken Fibrillen dieses bindegewebigen Netzes umgeben nämlich das Sarkolemm wie mittelst Klammern, welche letztere steifer, fester und weniger dilatierbar sind, als die übrigen Teile des Sarkolemm. Kontrahiert sich, verkürzt und verdickt sich die Muskelfaser, so wird das Sarkolemm entsprechend der Dickenzunahme erweitert und ausgespannt. An den Punkten jedoch, wo es kräftigere Bindegewebsfasern niederdrücken, kann das Sarkolemm mit der Verdickung der Muskelfaser nicht Schritt halten, nicht in entsprechender Weise sich dilatieren und stülpt sich oberflächlicher oder tiefer in die Muskelfaser ein, und zwar stets zwischen den Muskelsäulen. Auch dem wohnt ein natürlicher Grund inne. Die Muskelsäulen, insbesondere die in Kontraktion befindlichen, sind kompaktere Gebilde, als dass das Sarkolemm sich in dieselben einstülpen könnte; das Sarkoplasma resp. die interfibrilläre Substanz dagegen entfaltet überhaupt keinen Widerstand und so dringt das Sarkolemm an Stelle des allergeringsten Widerstandes ein. Die ganze Erscheinung vergegenwärtigen wir uns in der Weise am leichtesten, wenn wir eine mit einem Gitter umspinnene dünnwandige Gummiblase stark aufblasen, wobei wir beobachten können, dass die Teile des Gitters tatsächlich in die Wand des stark sich ausspannenden Balls eindringen.

Wiewohl dieses Phänomen mit dem physiologischen Zustande der Muskelfaser in innigem Zusammenhange steht, können wir trotzdem nicht einfach den Satz aufstellen, dass an jeder in Kontraktion befindlichen Faser SarkolemmEinstülpungen entstehen und andererseits an erschlafften Fasern solche nicht in die Erscheinung treten.

Nach den oben über die SarkolemmEinstülpungen gemachten Behauptungen sollten einestheils derlei Einstülpungen nur an kontrahierten Muskeln sich entwickeln, andererseits sollten dieselben um so ausgeprägter sein, je kräftiger sich der Muskel kontrahiert. Dieser Folgerung widersprechen aber die Tatsachen. Gerade an

den am kräftigsten kontrahierten Muskelenden finden wir keine Einstülpungen, während an erschlafften oder fast erschlafften Muskeln sehr starke Einstülpungen wahrnehmbar sind. Um diesen scheinbaren Widerspruch zu verstehen, müssen wir gesondert die am Ende des vollkommen kontrahierten Muskels sichtbaren Verhältnisse zum Gegenstand einer Untersuchung machen und separat die erschlafften Muskeln, denn schon an dieser Stelle muss ich vorwegnehmen, dass andere Faktoren bei den Sarkolemm-einstülpungen des kontrahierten und andere bei den erschlafften Fibrillen eine Rolle spielen.

Sehr treffend wies Heidenhain auf dem Leipziger Kongresse darauf hin, dass wir bei Erörterung der Frage der Kontinuität der Muskel-Sehnenfibrillen jenen Muskelfasern besondere Aufmerksamkeit zuzuwenden haben, bei welchen die Kontraktionswelle gerade auf das Ende der Muskelfaser zu liegen kommt. In derlei Fasern, wie dies die Abbildung 9 zeigt, grenzt des Sarkolemm scharf das Ende der Muskelfaser ab und scheidet die Muskelfibrillen von den Sehnenfibrillen. Entsprechend der Kontraktion ist das Ende der Muskelfaser stark verdickt, weitet sich am Durchschnitte trichterförmig aus, doch befinden sich an demselben keine interkolumnären Fäden oder Sarkolemm-Einstülpungen. Bei etwas höherer Einstellung ist auch hier das Sarkolemm-Netz sehr gut wahrnehmbar. Ähnliche Bilder sehen wir in den Fig. 10 und 11 mit den am Ende der Muskelfaser befindlichen Kontraktionswellen. In allen drei Fällen ist das Ende der Muskelfaser verbreitert, verdickt, das Sarkolemm haftet dem Ende der Muskelfaser glatt, ohne jede Einstülpung an.

Die erläuterten Tatsachen führen zu folgenden Schlüssen. Das Bindegewebsnetz des Sarkolemmes vermag zweifelsohne der Volumszunahme der Muskelfaser gegenüber einen Widerstand zu entfalten, der Grad dieser Resistenz kann aber nicht so gross sein, dass die am Höhepunkte der Kontraktion befindliche Muskelfaser diesen nicht besiegen könnte. Ich halte dafür, dass sich die Bindegewebsfibrillen wohl schwerer ausdehnen, als die mit Fibrillen nicht bedeckten Sarkolemmterritorien, die Kraft der vollständigen Kontraktion dilatiert jedoch schliesslich auch diese in entsprechender Weise. Diesem Umstande schreibe ich zu, dass in den auf den Fig. 9, 10 und 11 dargestellten Fällen, wobei der Höhepunkt der Kontraktion gerade auf das Ende der Muskelfaser

zu liegen kommt, keine Sarkolemm-Einstülpungen sichtbar sind. Auch einen anderen wichtigen Umstand dürfen wir nicht ausser Acht lassen. Das Ende der in Kontraktion befindlichen Muskelfaser, wenn die Kontraktionswelle gerade auf dasselbe zu liegen kommt, verdickt sich stark und rundet sich dementsprechend stark ab. Hierbei dilatiert sich, spreizt sich auch das die Oberfläche bedeckende Sarkolemm-Netz und die einzelnen Fibrillen des Netzes liegen mit den Muskelfibrillen nicht so parallel, wie am spitzen, dünnen, konischen Ende einer erschlafften Faser (siehe Fig. VIII). Wenn wir aus einer solchen verdickten und

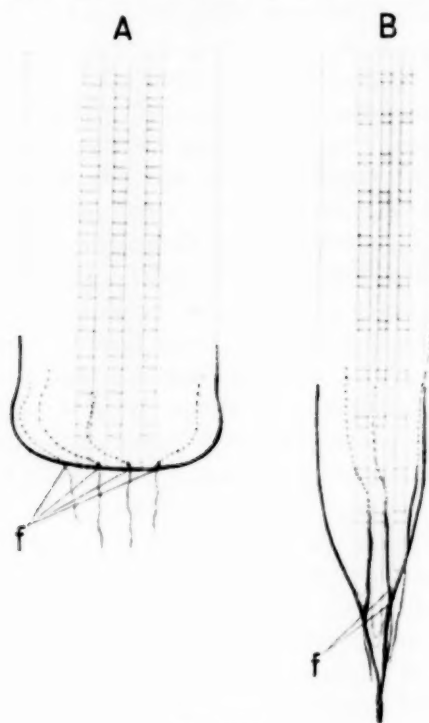


Fig. VIII.

Verhältnis des Sarkolemm-Netzes zu den Myofibrillen in kontrahiertem und erschlafftem Zustande (schematisch). A = kontrahierte, B = erschlaffte Muskelfaser, f = Fibrillen des Sarkolemm-Netzes.

abgerundet endigenden Muskelfaser ein dünnes Schnittpräparat bereiten, werden wir die das Ende der Muskelfaser bedeckenden Fibrillen nicht tangential treffen, wie im Falle einer erschlafften

konisch endigenden Muskelfaser, sondern quer, und so wird im mikroskopischen Bilde die Lage der Bindegewebsfibrillen höchstens durch sehr kurze Fädchen oder durch punktartige Verdickungen des Sarkolemmes angedeutet sein (siehe Fig. 12).

Wenn wir am Ende der erschlafften Fasern die Spuren der Einstülpungen suchen, kommen wir zu dem Ergebnis, dass wir an den vollkommen und gleichmässig erschlafften Fasern dieselben nicht finden. In den Fig. 2 und 3 habe ich zwei solche Fasern zur Abbildung gebracht, an welchen ich weder Kontraktionswellen noch Kontraktionsstreifen wahrnehmen konnte. Das Sarkolemm ist auch hier eine zusammenhängende, scharfe Linie, die nirgends zwischen die Muskelsäulen eindringt. Dieses Bild entspricht dem, was wir über die Entstehung der Sarkolemm-Einstülpungen annehmen. Da keine Kontraktion besteht, spannt sich das Sarkolemm nicht aus und es ist keine Gelegenheit zum Eindringen in die Muskelfaser gegeben. Dieses Bild der erschlafften Faser ist jedoch eine ziemlich seltene Erscheinung. An den meisten erschlafften Muskelfasern finden wir eine scheinbare Muskel-sehnen-Kontinuität, welche auch hier teils durch auf die Muskelsäulen projizierte Bindegewebsfibrillen, teils durch Sarkolemm-Einstülpungen vorgetäuscht wird.

Nach dem über die Verdickung des Endes der Muskelfaser Erörterten (siehe Fig. VIII) ist es leicht verständlich, dass in der erschlafften Muskelfaser gerade das entgegengesetzte Phänomen in die Erscheinung tritt. Das Ende der erschlafften Faser ist meist spitz, kegelförmig, oder wenn auch nicht so beschaffen, ist es allenfalls sehr dünn, und infolgedessen verlaufen die die Oberfläche bedeckenden feinen Bindegewebsfibrillen sehr steil, fast parallel mit den Muskelfibrillen, andererseits kommen sie am Ende der Faser so nahe zu den Muskelfibrillen zu liegen, dass wir die zwischen denselben liegenden Niveauunterschiede in vielen Fällen gar nicht wahrnehmen. Die Erschlaffung stellt daher günstige Verhältnisse für die Projektion der Sarkolemmfibrillen auf die Muskelfibrillen dar (siehe Fig. 13).

Die Einstülpungen des Sarkolemmes können übrigens auch am Ende erschlaffter Fasern entstehen, doch aus ganz anderer Ursache, wie an der kontrahierten Fibrille. Für ihre Entwicklung erscheint es am Wichtigsten, dass die Myofibrillen meist nicht auf einmal, oder nicht gleichmässig erschlaffen. Während in der

vollständig und gleichmässig erschlafften Faser — wie dies aus den Abbildungen 2 und 3 erhellt — die Myofibrillen im grossen und ganzen gleichmässig lang sind, oder wenigstens ein stufenweise auftretender Übergang zwischen der Länge der äusseren und der dazwischenliegenden Fibrillen besteht, endigen die Myofibrillen in den meisten in Erschlaffung befindlichen oder nicht gleichmässig erschlafften Fasern bald höher, bald tiefer. Bei der

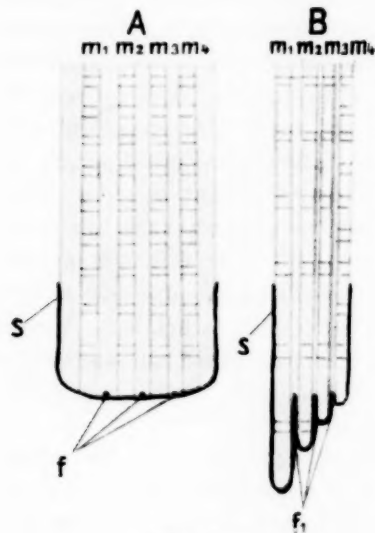


Fig. IX.

Entstehung der Sarkolemm-Einstülpungen infolge ungleichmässiger Erschlaffung der Muskelfibrillen (schematisch). A = die kontrahierte, B = die erschlaffte Muskelfaser; m_1, m_2, m_3, m_4 = Myofibrillen; s = Sarkolemm; f = die durch die Bindegewebsfibrillen des Sarkolemm niedergedrückten Punkte; f_1 = Sarkolemm-Einstülpungen.

gleichen Widerstand entfalten, wie der Zunahme des Dicken- durchmessers gegenüber und so werden zwischen den in verschiedenen Stufen der Erschlaffung befindlichen und verschieden langen Myofibrillen Sarkolemm-Einstülpungen entstehen (siehe Fig. IX). Im Wesen spielen somit auch bei der Erschlaffung dieselben Faktoren, das heisst der Widerstand des Sarkolemm-Netzes

Erschlaffung dehnen sich die Fibrillen zu ihrer ursprünglichen Länge aus. Dementsprechend schieben sie das Sarkolemm, das bei der Kontraktion mit dem Ende der Muskelfaser zusammen sich proximalwärts kontrahierte und ausgespannt war, distalwärts vor sich her. Wenn nun einzelne Myofibrillen vorher sich dilatieren und sich stärker strecken als die neben ihnen liegenden, so wird der Verlauf des Sarkolemm eine Zickzacklinie zeigen. Hierbei dürfen wir nicht vergessen, dass das Sarkolemm stellenweise durch die bindegewebigen Fibrillen klammerartig umgeben, niedergedrückt ist. Diese durch das Sarkolemm-Netz niedergedrückten Stellen werden der Längenzunahme der Muskelfibrillen gegenüber einen

und die innere Spannkraft der Muskelfaser eine Rolle bei der Entstehung der Sarkolemm-Falten, wie bei der Kontraktion, nur mit dem Unterschiede, dass bei der Erschlaffung der innere Druck Folge der Längenzunahme der Muskelfaser, resp. der Ausdehnung derselben, bei der Kontraktion hingegen Konsequenz der Dickenzunahme ist.

Auf Grund des Entwickelten glaube ich klargelegt zu haben, dass während im Stadium der vollständigen Kontraktion und Erschlaffung am Ende der Muskelfaser keine Sarkolemm-einstülpungen entstehen, können wir zwischen beiden Stadien, d. h. an der noch nicht gleichmässig erschlafften oder noch nicht auf dem Höhepunkt der Kontraktion angelangten Muskelfaser am Ende desselben ausgesprochene Sarkolemm-einstülpungen beobachten. Diesen Satz beweisen die Abbildungen X, XI, XII und XIII. An

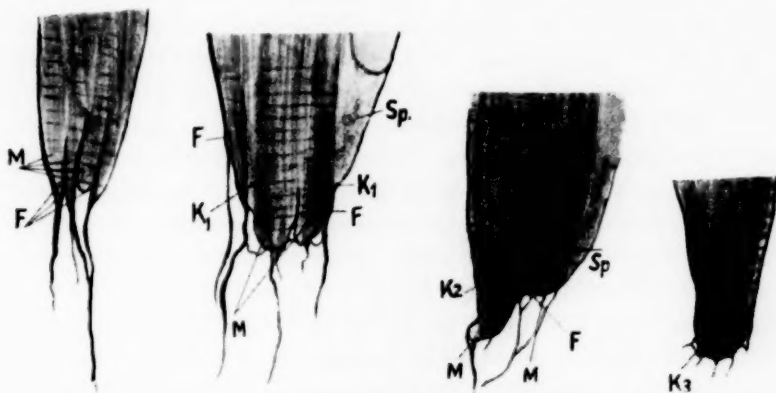


Fig. X.

Fig. XI.

Fig. XII.

Fig. XIII.

Fig. X—XIII.

Salamander-Muskelfaser-Endigungen in verschiedenen Stadien der Kontraktion. Fig. X. Ungleichmässig erschlaffte Muskelfaser. Fig. XI. Muskelfaser mit schwach ausgeprägter Kontraktionswelle. Fig. XII. Muskelfaser mit stärker ausgeprägter Kontraktionswelle. Fig. XIII. Endigung der Muskelfaser, am Höhepunkte der Kontraktion befindlich.

F = Sarkolemm-Einstülpungen; M = in verschiedener Höhe endigende Myofibrillenbündel; K₁ = in schwächerer, K₂ = in stärkerer, K₃ = auf dem Höhepunkte der Kontraktion befindliche Kontraktionswelle; Sp = Sarkoplasma.

diesen können wir nebeneinander vier verschiedene Grade der Kontraktion beobachten, am Ende der Muskelfaser einer Salamanderlarve vom erschlafften, doch noch nicht gleichmässig relaxierten

Muskelende (Fig. X) bis zur am Höhepunkte der Kontraktion befindlichen Muskelfaser. Wir können ersehen, dass je mehr sich die Kontraktion ihrem Höhepunkte nähert, um so mehr Fibrillen in einer und derselben Linie endigen, um so dicker und abgerundeter das Ende der Muskelfaser sein wird und um so weniger interkolumnäre Fasern zwischen den Muselfibrillen liegen werden.

Alles in allem können wir über die scheinbare Kontinuität der Muskel-Sehnentfibrillen konstatieren, dass eine solche unter verschiedenen Umständen und aus differenten Ursachen vorgetäuscht werden kann. Im gegebenen Falle daher, in welchem das mikroskopische Bild eine scheinbare Kontinuität der Muskel-Sehnentfibrillen zeigt, dürfen wir nicht einseitig nur eine bestimmte Erklärung annehmen und diese den Tatsachen aufoktroyieren, wir müssen vielmehr verschiedene Möglichkeiten vor Augen halten und einesteils aus der Form des Endes der Muskelfaser und der Oberflächenstruktur des Faserendes, andererseits aus dem physiologischen Zustande der Faser in jedem einzelnen Falle die Erklärung schöpfen.

Zwei Faktoren haben aber in jedem Falle eine entscheidende Rolle: das Sarkolemm-Netz und der physiologische Zustand der Muskelfaser. Wenn der physiologische Zustand der Muskelfaser ein derartiger ist, dass das Sarkolemm-Netz zwischen die Muskel-fibrillen sich einbiegt, so rufen Sarkolemm-Einstülpungen die scheinbare Kontinuität der Muskel-Sehnentfibrillen hervor. Es kann aber das gleiche Bild entstehen auch ohne Einwärtswendung des Sarkolemm, wenn nämlich das Ende der Muskelfaser so dünn ist, dass die Fibrillen des Sarkolemm-Netzes auf die Myofibrillen sich projizieren und die zwischen ihnen liegenden minimalen Niveaudifferenzen nicht zu beurteilen sind. Mit einem Worte, wenn wir uns vergegenwärtigen, in welcher variabler Weise die Kontraktion und Erschlaffung der Muskelfaser die Form der Oberfläche und des Endes der Faser zu modifizieren imstande ist, wieweit durch dieselbe die Oberflächenspannung beeinflusst wird; andererseits, wenn wir erwägen, welche verschiedene Lage und Spannung das Sarkolemm-Netz besitzen kann, so können wir aus diesen beiden Faktoren die differenten Bilder der scheinbaren Kontinuität zwischen Muskel- und Sehnentfibrillen erklären.

In Nachstehendem will ich noch an der Hand einiger Beispiele demonstrieren, dass die Kontinuität der Muskel- und Sehnenfibrillen nur eine scheinbare ist, und wo dieselbe in die Erscheinung tritt, sie durch Einstülpungen des Sarkolemm-Netzes oder durch Projizierung von Bindegewebsfibrillen auf die Muskelfibrillen vorgetäuscht wird.

In Fig. 14 demonstriere ich eine mit Vanadium-Hämatoxylin gefärbte Salamander-Muskelfaser. Das Schnittpräparat war $5\ \mu$ dick, und bei allerschärfster Einstellung (wobei die Muskelfibrillen und die Querstreifung gut sichtbar waren) fand ich das hier abgezeichnete Bild. Das Ende der Faser ist ein wenig abgerundet, die Muskelsäulen endigen nicht ganz in einer Linie, und zwischen ihnen liegen kürzere oder längere interkolumnäre Fasern, die unmittelbar in Sehnenfibrillen ihre Fortsetzung finden.

Mit einem Worte, wir haben es hier mit einem ausgeprägten Falle einer scheinbaren Muskel-Sehnen-Kontinuität zu tun. Diese Faser habe ich alsdann bei verschiedener Einstellung graphisch rekonstruiert (Fig. 15). Die Einstellungsebenen habe ich mit den an der Mikrometerschraube des grossen Zeiss'schen Statives befindlichen Zahlen bezeichnet. So fand ich die allerhöchste optische Ebene bei $3\frac{1}{2}$, dann zeichnete ich die bei $4\frac{1}{2}$, 6, 7, 8, 9, 10 und 11 eingestellten Ebenen übereinander, bis ich bei 11 die Grenze der Penetrationsfähigkeit des Mikroskops erreichte. Aus dieser Rekonstruktion überzeugte ich mich klar und deutlich darüber, dass die Oberfläche der Muskelfaser von dicken Bindegewebsfibrillen bedeckt ist, welche das Ende der Faser mit einem dichten Netze umgeben. Es genügt, von der Fig. 14 auf die Fig. 15 einen Blick zu werfen, und sofort fällt es auf, dass die scheinbaren Muskel-Sehnenfibrillen nichts anderes darstellen, als die Durchschnitte der Fibrillen des Sarkolemm-Netzes, die die Oberfläche der Muskelsäulen bedecken und wahrscheinlich sich zwischen dieselben einstülpen. Dass dieses Sarkolemm-Netz auch mit dem Perimysium zusammenhängt, können wir aus dem die Muskelfaser quer überbrückenden R-R-Bündel ersehen. Auf dieses quer liegende Bündel mache ich auch deshalb aufmerksam, da gerade an diesem wahrnehmbar ist, wie sehr die auf der Oberfläche liegenden Fibrillen auch das tiefer eingestellte Bild der Muskelfaser zu beeinflussen imstande sind, andererseits ist gerade

hier auch ersichtlich, dass während der Kontraktion die schwerer sich dilatierenden Bindegewebsfasern in die an Dicke zunehmende Muskelsubstanz eindringen können.

In der Fig. 14 liegt auf der linken Seite eine Kontraktionswelle, die in eigentümlicher Weise sich nur auf die halbe Seite der Muskelfaser beschränkt, gegen die rechte Seite und nach abwärts endigt sie mit einer scharfen Linie. Die Fig. 15 gibt auch hierfür eine Erklärung. Die Kontraktionswelle kommt gerade auf das Gebiet zu liegen, wo die starken Querfibrillen des R-R-Bündels mit den Längsfibrillen anastomosieren. Die Kontraktionswelle kann sich nur auf der linken Seite oberhalb des R-Bündels entwickeln, denn hier ist ein freies, fibrillenloses Territorium, nach abwärts und gegen die rechte Seite setzen die starken Bindegewebsfibrillen einen Widerstand, die hierselbst nicht nur die Vorwölbung der Muskelfaser erschweren, sondern während der Kontraktion in die Muskelfaser selbst eindringen. So tritt am mikroskopischen Bilde die eigentümliche Form der Kontraktionswelle in die Erscheinung, und so entstehen die scheinbaren Kontinuitäten der Muskel-Sehnenfibrillen.

Gegen die Annahme einer direkten Kontinuität der Muskelfibrillen und Sehnenfibrillen liefert einen anderen schlagenden Beweis die Fig. 16. Am Ende dieser $3\ \mu$ dicken, mit Azokarmin-Mallory gefärbten Muskelfaser sind scheinbare Verbindungen bei a und b sichtbar. Diese blauen Fädchen hören alsbald auf, weiter oben aber treten sie an der Seite derselben Muskelsäulen wieder bei A und B hervor. Die Erklärung dieses Bildes liegt darin, dass A und a, B und b die Durchschnitte derselben oberflächlich liegenden Fasern sind, die bei A und a, B und b tiefer in die Muskelfaser eindringen und so in die Ebene des Schnittes gelangten. Aus ähnlichen Gründen finden wir oft bindegewebige Fädchen, verhältnismässig weit entfernt vom Ende der Muskelfaser, die im gleichen Verhältnis mit den Muskelfibrillen stehen, wie die Fibrillen a, b, A und B der Fig. 16. Derlei interkolumnäre Fädchen erreichen überhaupt nicht das Ende der Muskelfaser und sind demgemäss in die Sehnenfibrillen nicht zu verfolgen. So sind an der Fig. 17 bei k mehrere solcher Fibrillen zwischen den Myofibrillen sichtbar. Nachdem k eine kleine Kontraktionswelle darstellt, ist dieses Bild unserer Annahme gemäss so zu deuten, dass die Fädchen des Sarkolemm-

netzes in die Kontraktionsstelle eindringen und auf diese Weise an dieser Stelle und nur hier in den Schnitt gerieten.

Schliesslich liefert einen interessanten Gegenbeweis bezüglich der Kontinuität der Muskel-Sehnenfibrille auch die Fig. 18. Hier brachte ich den Rand eines mit Azokarmin-Mallory gefärbten Froschmuskels zur Abbildung. Stark blau gefärbt in der Faser sind die Grundmembranen und gut sichtbar ist es, wie an den Endpunkten dieser Membranen das Sarkolemm Festone bildet, zwischen den Festonen aber, förmlich als Fortsetzung der Grundmembranen, perimysiale, bindegewebige Fasern entspringen. Wenden wir dieses Bild derart, dass die perimysialen Fädchen nach abwärts sehen, so erhalten wir ein Ebenbild, wie im Falle der scheinbaren Kontinuität der Muskel-Sehnenfibrillen am Ende der Muskelfaser, nur mit dem einzigen Unterschiede, dass an Stelle der Sarkolemm-einstülpungen hier Festone entstanden und dass die bindegewebigen Fädchen nicht als unmittelbare Fortsetzung der Muskelfibrillen, sondern der Grundmembranen erscheinen. Es ist wohl überflüssig, näher zu beweisen, dass die Fasern des Perimysiums nicht aus den Grundmembranen entstehen, und dass auch diese Kontinuität, die so auffallend der von Schultze und Loginow beschriebenen Kontinuität ähnlich erscheint, nur eine scheinbare ist. Auch hier, wie am Ende der Muskelfaser, rufen dieselben Fibrillen des Sarkolemmnetzes dieses Phänomen hervor, welche sich am Rande der Faser in das Perimysium fortsetzen; da sie gerade am Rande der Muskelfaser der Anheftungsstelle der Grundmembranen stärker anhaften, sind sie an diesen Punkten von den Grundmembranen optisch nicht isolierbar.

Zusammenfassung.

Das Resultat meiner Untersuchungen kann ich im folgenden zusammenfassen:

1. An den mit elektiven Bindegewebsfärbungen tingierten Präparaten sehen wir an den meisten Muskelfasern des Ende der Faser von einem nicht unterbrochenen Sarkolemm begrenzt.
2. Das Sarkolemm besteht aus einer Hyalinmembran (oder Grundsubstanz) und aus einem Netze feinerer und dickerer Bindegewebsfibrillen.
3. Die Sehnenfibrillen nehmen ihren Ursprung aus den Bindegewebsfibrillen des Sarkolemmes.

4. Der Anschein einer Kontinuität der Muskel-Sehnentfibrillen kann entstehen:

- a) wenn das Ende der Muskelfaser nicht entsprechend einstellbar ist und die Sarkolemmfibrillen in die Muskelfaser projiziert werden.
- b) wenn das Ende der Muskelfaser sich so verdünnt und zuspitzt, dass die auf seiner Oberfläche befindlichen Bindegewebsfibrillen von den Endstücken der Myofibrillen optisch nicht zu isolieren sind.
- c) wenn das Ende der Muskelfaser von unregelmässig gelappter Form ist und entsprechend den in verschiedener Höhe endigenden Bündeln von Muskelfibrillen das Sarkolemm einen Zickzack-Verlauf darbietet.
- d) wenn während der Kontraktion der Muskelfaser das durch das bindegewebige Netz niedergedrückte Sarkolemm in die Muskelfaser eindringt.
- e) wenn während der Erschlaffung der Muskelfaser die sich in verschiedenem Maße ausdehnenden Myofibrillen stellenweise das Sarkolemm vor sich herschieben und ausweiten.

Woran liegt es, dass das Ergebnis meiner Untersuchungen so schnurstracks den Beobachtungen von Schultze und Loginow zuwiderläuft?

Nach meinem Dafürhalten liegt der Grund hierfür in erster Linie in der von diesen Forschern angewandten Technik, welche geeignet ist, die zweierlei Fibrillen in unmittelbarer Kontinuität erscheinen zu lassen.

Die Schultzesche Technik, die auch Loginow befolgte, ist in allen ihren Einzelheiten so ausgearbeitet, dass die mit derselben gewonnenen Präparate in scharfer Weise und mit überzeugender Kraft die Theorie der Kontinuität erweisen müssen. Vielleicht nicht geflissentlich, doch immerhin zweckmässig ist in dieser Technik alles vereint, was die Darstellung der scheinbaren Kontinuität erleichtert und die richtige Erkennung der Lage der Bindegewebsfibrillen zu erschweren imstande ist.

Den grössten Teil der Untersuchungen hat Schultze an isolierten, teils ungefärbten, teils mit Chromhämatoxylin (eventuell mit Rubin) gefärbten Präparaten durchgeführt.

Über diese Präparate äusserte ich mich bereits vorher, dass ihnen keine beweisende Kraft zukommt. In der Theorie Schultzes spielen aber gerade diese Präparate eine wichtige Rolle und mit Recht, denn gerade an solchen plastischen Fasern, an denen das Sarkolemm-Netz in seiner vollständigen Dichtigkeit sichtbar ist, insbesondere an ungefärbten oder nicht genügend differenziert gefärbten Präparaten sehen die Verhältnisse in der Tat täuschend so aus, als würden die mit den Myofibrillen parallelen Fädchen des Netzes mit den Myofibrillen in Zusammenhang stehen.

Bei den Untersuchungen der Schnitte bediente sich Schultze des 1proz. und 2proz. Osmiums, eines Gemenges von 2proz. Osmium und 2proz. bichromsaurem Kalium, des 10proz. und 25proz. Formols, Formolalkohols (1 Teil Formol + 2 Teile Alkohol), eines Gemenges von Formol und 3proz. doppelchromsaurem Kalium und der Flemmingschen Lösung. Auch Loginow benutzte einen Teil dieser Fixierungsmittel. Diese sind aber, mit Ausnahme der Flemmingschen Lösung, samt und sonders starke Schrumpfung bewirkende Lösungen, die eben ihrer starken Schrumpfwirkung wegen sehr geeignet sind zur Hervorhebung der Kontinuität der Muskel-Sehnenfibrillen. Die Schrumpfwirkung macht sich einestheils auf die Bindegewebsfibrillen, anderseits auf die Form des Endes der Muskelfaser geltend, und die Folge hiervon ist, dass die Fädchen des Sarkolemm-Netzes noch mehr neben die Muskelfibrillen zu liegen kommen, so dass bei der Schrumpfung des ohnedies schmalen Faserendes der Niveauunterschied der zweierlei Fädchen überhaupt nicht zu konstatieren ist. Nebstbei reisst das sehr dünne Sarkolemm leicht ab, insbesondere wenn die Muskelfibrillen nicht gleichmässig schrumpfen. Welche grosse Rolle tatsächlich den stark schrumpfenden Fixierungsmitteln in der Theorie Schultzes zukommt, beweist, dass Schultze und Loginow gerade den die grösste Schrumpfung bewirkenden Formolalkohol als das geeignetste Fixiermittel hervorheben, dagegen geben sie nach Anwendung des weniger schrumpfenden und verlässlicher fixierenden doppelchromsauren Kalium-Formols oder der Flemmingschen Lösung über ihre Präparate weder eine Beschreibung, noch bieten sie irgend eine Zeichnung über solche.

Für Schnittprüfungen halten sie nur sehr dünne, 2μ dicke Präparate für geeignet. Von ihrem Standpunkte aus betrachtet,

ist dies ein sehr natürliches Postulat, wie ich dies bereits oben erwähnt habe. Bei einer so minimalen Dicke vermag man die durchschnittenen Fäden des am Ende der Muskelfaser den Muskelfibrillen sich anschmiegenden Sarcolemm-Netzes nicht auf die Faseroberfläche zu verfolgen.

Schliesslich ist die stärkste Waffe dieser Technik das farberische Verfahren. Die Schultzesche Chromhämatoxylin-Färbung, kombiniert mit Rubin oder Van Gieson, gewährt klare, gefällige Bilder; als elektive Färbung ist sie hinsichtlich der in Frage kommenden Sache aber keineswegs zu bezeichnen. Das Chromhämatoxylin färbt ebenso die Myofibrillen, wie das Bindegewebe, das Rubin hingegen färbt diffus und greift auch auf die Muskelfibrillen über. Bei einer solchen Färbung ist es nur natürlich, dass wir vergeblich eine scharfe Grenze zwischen Bindegewebe und Muskelsubstanz suchen. Rein von der Differenzierung der Rubin-färbung hängt es ab, ob auch an den Sehnenfibrillen eher die Farbe des Chromhämatoxylins zur Geltung kommt, oder die rote Farbe des Rubins auch auf die Muskelfibrillen übergreift. In beiden Fällen ist sie eine sehr geeignete Färbung dazu, um den Anschein einer allmählich auftretenden Verschmelzung der Farbe der zweierlei Fibrillen und so der Kontinuität der beiden Fibrillenarten hervorzurufen.¹⁾

¹⁾ Die Chromhämatoxylin-Orceinfärbung, mit welcher Loginow die Beziehungen zwischen elastischen Sehnenfibrillen und Myofibrillen studierte, ist von einem ganz anderen Gesichtspunkte zu betrachten. Es ist dies eine tatsächlich verlässliche, elektive Färbung. Leider habe ich beim Erscheinen der Abhandlung Loginows meine Untersuchungen bereits beendet gehabt und konnte diese elastische Färbung nicht versuchen. Da man aber an jedem anderen Muskel die Kontinuität der Muskel-Sehnenfibrille widerlegen kann, erscheint es mir unwahrscheinlich, gerade an den Muskeln der retrolingualen Lymphtasche des Frosches eine unmittelbare Verbindung zwischen den beiderlei Fibrillen zu finden. Dies ist um so unwahrscheinlicher, da an der Abbildung (Fig. 9) Loginows deutlich ersichtlich ist, einerseits dass die elastischen Fibrillen nicht vom Ende der Myofibrillen, sondern zwischen denselben hervorgehen, andererseits, dass sie auch von der Seite und Oberfläche der Muskelfaser entspringen, was übrigens Loginow selber konstatiert. Bedenken wir noch überdies, dass das Präparat eine ausgespannte Membran ist, die wir in ihrer ganzen Dicke untersuchen müssen und in welcher oberhalb und unterhalb der Muskelfasern ein dichtes Netz von elastischen Fasern liegt, so können wir trotz der elektiven Färbung die beweisende Kraft dieses Präparates anzweifeln. Es hängt nämlich vollständig von subjektiven Faktoren ab, wenn wir die Oberfläche der Muskelfaser bedeckenden und auf die Muskelfaser unbedingt sich projizierenden elastischen Fasern mit den Myofibrillen in Verbindung bringen.

Neben einer solchen Fixierung, Schnittdicke und Färbung ist es noch für die Technik Schultzes und Loginows sehr charakteristisch, dass sie nur vollständig erschlaffte Muskeln der Untersuchung unterziehen. Loginow fixiert $\frac{1}{2}$ bis 1 Stunde nach dem Tode, Schultze tut dessen wohl keine besondere Erwähnung, doch ist es mir aus seiner mündlichen Mitteilung bekannt, dass er ebenfalls nur 1 bis 2 Stunden nach dem Tode fixiert. In dieser Weise können sie die im Momente des Todes oder nach demselben auftretenden Kontraktionen allerdings ausschalten, doch vermögen sie die Kontraktilität und Irritabilität des Muskels nicht zum Schwinden zu bringen. Denn, wie ich dies an meinem eigenen Materiale erfuhr, kann man Kontraktionserscheinungen auch an den $1\frac{1}{2}$ bis 2 Stunden p. mortem fixierten Froschmuskelfasern beobachten. Ob diese Kontraktionswellen auf noch nicht vollkommen erschlaffte Fasern hindeuten, oder, was mir plausibler erscheint, der Reaktion der noch kontraktilen und irritabilen Faser entsprechen, welche Reaktion durch die Einwirkung des Fixiermittels ausgelöst wurde — dies konnte ich nicht einwandfrei entscheiden. Es ist allenfalls konstaterbar, dass, obwohl äusserlich an 1 bis 2 Stunden nach dem Tode fixierten Fasern keine starke Kontraktion mehr sichtbar ist, wir trotzdem an ihnen mehr oder minder ausgeprägte Kontraktionswellen finden. Diese sind aber, wie wir dies oben sahen, für die Entstehung der scheinbaren Muskel-Sehnenfibrillen-Kontinuität gerade die am meisten geeigneten Stellen. Andererseits ist das Ende dieser erschlafften Fasern sehr dünn, die Muskelfibrillen endigen in ihnen meistens in verschiedener Höhe und deshalb zeigt das Sarkolemm hier einen Zickzackverlauf, die Fibrillen des Sarkolemm-Netzes liegen aber zu den Muskelfibrillen parallel und schmiegen sich denselben dicht an.

Wenn wir nun in diesem Zustande die Muskelfasern noch mit starke Schrumpfung bewirkenden Fixations-Mitteln fixieren und mit nicht elektiver Färbung tingieren, so ist es nur natürlich, dass wir derlei überzeugende Bilder über die Kontinuität der Muskel-Sehnenfibrillen erhalten, wie sie sowohl die Abbildungen Schultzes als Loginows, wie meine eigenen nach Schultze behandelten Präparate darbieten.

Meine übrigen mit anderen Fixiermitteln und Färbungen behandelten, anderem physiologischen Zustande entnommenen Präparate belehrten mich aber, dass diese Bilder nur die Folge

der speziellen und einseitigen Technik Schultzes sind. Die ganze Theorie Schultzes ist nur mit dieser Technik zu stützen; sobald wir die Fixiermittel anders wählen, verlässlicher differenzierende Färbungen in Anwendung bringen, entfernen wir uns immer mehr von dieser Theorie. Die Beziehung des Endes der Fasern zu den Sehnenfibrillen erscheint alsdann nicht mehr so leicht im Sinne der Theorie der Kontinuität erklärt, ja an nur verhältnismässig wenig Fasern finden wir eine scheinbare Kontinuität zwischen den Myofibrillen und Sehnenfibrillen. Wenn wir in verschiedenem physiologischen Zustande befindliche Muskelfasern vergleichen, womöglich nicht Schrumpfung bewirkende Fixiermittel und scharf differenzierende Färbungen anwenden, ferner nicht übermässig dicke und übermässig dünne Schnitte benützen, so vermögen wir auch betreff dieser scheinbaren Kontinuität der Muskel-Sehnenfibrillen in jedem einzelnen Falle zu konstatieren, dass die Sehnenfibrillen auch hier aus dem Bindegewebsnetz des Sarkolemmis ihren Ursprung nehmen und nur wegen der besonderen Form der Faserendigung oder wegen der Sarkolemm-Einstülpung so dicht neben die Myofibrillen zu liegen kommen.

Literaturverzeichnis.

1. v. Froriep, A.: Über das Sarkolemm und die Muskelkerne. Arch. f. Anat. u. phys. Anat., Abt. 1878.
2. Griesmann, Br.: Über die fibrilläre Struktur des Sarkolemmis. Internationale Monatsschr. f. Anat. u. Phys., XXIX.
3. Heidenhain, M.: Plasma und Zelle, 1911.
4. Loginow, W.: Zur Frage von dem Zusammenhang von Muskelfibrillen und Sehnenfibrillen. Arch. f. Anat. u. Entwicklungsgesch., 1912.
5. Prenant, A., Bouin, P. und Mailland, L.: Traité d'Histologie, 1911.
6. Schultze, O.: Über den direkten Zusammenhang von Muskelfibrillen und Sehnenfibrillen. Arch. f. mikr. Anat., 79. Bd.
7. Derselbe: Die Kontinuität der Muskelfibrillen und Sehnenfibrillen. Verh. d. Anat. Gesellsch. a. d. 25. Vers. in Leipzig. Anat. Anz., XXXIII. Bd., Ergänzungsheft.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel I—III.

Allgemeine Bezeichnungen:

m = Myofibrillen.	Bdn = Kern der Bindegewebs-
s = Sarkolemm.	zellen.
Mn = Kern der Muskelfaser.	K = Kontraktionswelle.
	T = Sehne.

Alle Abbildungen sind mit dem Zeiss'schen Zeichenapparat bei einer Tubuslänge von 140 mm, 2 cm unterhalb des Objektisches, von dem Verfasser selbst entworfen. Vergrößerung: Zeiss, Komp.-Ok. 8, apochrom. homog. Immers. 1,5 mm, Apert. 1,3.

Tafel I.

- Fig. 1. Muskelfaser des Frosches, Formol-Alkohol, Chromhämatoxylin-Rubin.
 Fig. 2. Muskelfaser einer Salamanderlarve mit konischem Faserende. Sublimat-Trichloressigsäure, Azokarmin-Mallory.
 Fig. 3. Muskelfaser von der Salamanderlarve mit stumpfem Faserende. Behandlung wie bei Fig. 2.
 Fig. 4. Muskelfaser von der Salamanderlarve, auf die Myofibrillen und auf die Querstreifung scharf eingestellt. Behandlung wie bei Fig. 2.
 a, b, c, d, e = Bindegewebsfibrillen.
 Fig. 4a. Dieselbe Muskelfaser bei einer ungefähr $\frac{1}{2}$ „ höheren Einstellung

Tafel II.

- Fig. 5. Muskelfaser von der Salamanderlarve. Sublimat-Trichloressigsäure, Eisenhämatoxylin (nach M. Heidenhain), Thiazinrot.
 Ms = Myoseptum; Sp = Sarkoplasma.
 Fig. 6. Muskelfaser von der Salamanderlarve. Behandlung wie bei Fig. 5.
 Fig. 7. Muskelfaser des Frosches. Formol-Alkohol, Azokarmin-Mallory.
 Fig. 8. Muskelfaser des Frosches. Regaud, Azokarmin-Mallory.
 a, b, c, d, e = Bündel von Myofibrillen; α , β , γ , δ = interkolumnäre Fädchen.
 Fig. 9. Muskelfaserende in vollständiger Kontraktion (Salamanderlarve). Sublimat-Trichloressigsäure, Azokarmin-Mallory.
 Fig. 10. Muskelfaserende mit einer starken Kontraktionswelle. Sublimat-Trichloressigsäure, Vanadiumhämatoxylin (Präparat von Professor M. Heidenhain).
 Fig. 11. Muskelfaserende in kontrahiertem Zustande (Frosch). Regaud, Azokarmin-Mallory.

Tafel III.

- Fig. 12. Muskelfaserende in kontrahiertem Zustande (Salamanderlarve). Sublimat-Trichloressigsäure, Vanadiumhämatoxylin (Präparat von Professor M. Heidenhain).
 a, b, c, d = Durchschnitte des Sarkolemmnetzes.

- Fig. 13. Muskelfaserende vollständig erschlaft. Behandlung wie bei Fig. 12.
a = eine Fibrille des Sarkolemmnetzes, auf die Muskelfibrillen projiziert.
- Fig. 14. Muskelfaser von der Salamanderlarve. Sublimat-Trichloressigsäure, Vanadiumhämatoxylin (Präparat von Professor M. Heidenhain).
- Fig. 15. Dieselbe Muskelfaser graphisch rekonstruiert.
- Fig. 16. Muskelfaser von der Maus. Formol-Essigsäure, Azokarmin-Mallory.
- Fig. 17. Muskelfaser von der Maus. Behandlung wie bei Fig. 16.
- Fig. 18. Der Rand einer Muskelfaser (Frosch). Regaud, Azokarmin-Mallory.
Z = Grundmembran (Telophragma); P = perimysiale Bindegewebsfibrillen; f = Fibrillen des Sarkolemmnetzes; x = diejenigen Stellen, wo die Fibrillen des Sarkolemm an den Endigungen der Grundmembranen haften.

Die Entwicklung des Cranial- und Visceralskeletts von *Petromyzon fluviatilis*.

Von

Alban Schalk, Mainz a. Rh.

Hierzu Tafel IV und 34 Textfiguren.

Inhalt:	Seite
I. Einleitung	43
II. Bildungsgewebe für Cranial- und Visceralskelett	44
III. Die Entwicklung der cranialen Teile des Skeletts	45
IV. Kiemenskelett	49
a) Ursprung der Branchiodermis	49
b) Die Entwicklung des Kiemenskeletts	54
V. Verbindung zwischen Cranial- und Visceralskelett	60
VI. Vergleiche	63

I. Einleitung.

Die Entwicklung von Teilen des Schädels und Visceralskeletts von *Ammocoetes* war schon oft der Gegenstand von grösseren und kleineren Arbeiten. Eine zusammenhängende Darstellung aller knorpeligen Skeletteile des *Ammocoetes* wurde aber meines Wissens noch nicht gegeben. Aber auch zwischen den Angaben der einzelnen Autoren, die sich mit jenen Dingen eingehender beschäftigt haben, liegen in mancher Hinsicht so beträchtliche Gegensätze vor, dass es nicht unwichtig erschien, die strittigen Punkte neu zu untersuchen. Indem ich dieser, mir gestellten Aufgabe nachkam, ergaben sich daneben auch ganz neue Befunde. Meine Untersuchungen beschränkten sich fast ausnahmslos auf *Ammocoetes* von *Petromyzon fluviatilis*, im Gegensatz zu den meisten Autoren, die *Petromyzon Planeri* für ihre Arbeiten benutzt haben. Ein Unterschied zwischen *Petromyzon fluviatilis* und *Petromyzon Planeri* besteht aber nur in der Grösse der Larven. Leider konnte ich Untersuchungen über die Metamorphose von *Ammocoetes* in *Petromyzon* nur in sehr beschränktem Maße vornehmen, da mir nur ein Tier mit fast beendeter Metamorphose zur Verfügung stand und es ausgeschlossen ist, brauchbares Material in grösserer

Menge zu beschaffen. Die bei meiner Arbeit benutzten Ammocoeten von *Petromyzon fluviatilis* wurden im Zoologischen Institut der Universität Strassburg aus dort besamten Eiern gezogen. Zur Verfügung standen mir Larven vom eben befruchteten Ei, bis zur Grösse von über 1 cm. Grössere Stadien waren nur sehr wenige vorhanden. Konserviert wurden die Tiere mit dem Pikrinsäuregemisch nach Brasil: 1 acid. picr., 15 acid. acet., 60 Formol, 150 alc. 80%. Da die grosse Anzahl der Dotterplättchen der jungen Tiere die Objekte bei langem Verweilen im Thermostaten spröde und das Schneiden fast unmöglich macht, erhielt ich erst brauchbare Schnittserien, nachdem ich die Überführung von Xylol in Paraffin bis auf $\frac{1}{2}$ Stunde, bei mehrfach gewechseltem Paraffin, beschränkt hatte. Durchweg wurde Schnittfärbung angewandt. Die jüngeren Tiere, etwa bis 2 mm Länge, wurden mit Magnesiakarmin, Pikramminsäure, Chromotrop gefärbt. Die Vorteile dieser Methode sind gross. Während gewöhnliches Boraxkarmin, Heidenhainsche und Delafield'sche Hämatoxyline die Dotterplättchen stark mitfärben, so dass die Kerne vollständig überdeckt sind, erhält man mit Magnesiakarmin eine reine Kernfärbung. Der Dotter wird durch Pikramminsäure gelb gefärbt. Scharfe Zellgrenzen wurden mit Chromotrop erzielt, was bei jüngeren Stadien von grossem Vorteile ist. Ältere Ammocoeten wurden mit Boraxkarmin, Bismarckbraun, Bleu de Lyon behandelt. Zieht man bei der Behandlung Bismarckbraun in geeigneter Weise aus, so erhält man Bilder, bei denen nur die Knorpel und Schleimknorpel braun tingiert erscheinen. —

Sollten in vorliegender Arbeit irgend welche befriedigende Resultate vorliegen, so verdanke ich dies in erster Linie meinem hochverehrten Lehrer Herrn Prof. Goette, der durch seine stete Unterstützung mit Rat und Tat in hohem Maße zum Gelingen meiner Aufgabe beitrug.

Ich spreche ihm daher an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank aus.

II. Bildungsgewebe für Cranial- und Visceralskelett.

Der allgemein gültigen Ansicht von der Entstehung des gesamten Kopf- und Visceralskeletts aus mesodermalem Mesenchym trat zum ersten Male J. B. Platt (1894) entgegen, die für *Necturus lateralis* nachwies, dass die Mesenchymmassen, aus denen sich die

knorpeligen Visceralbogen differenzieren, ektodermaler Herkunft sind. Zu denselben Resultaten gelangten von Kupffer (1895) für *Petromyzon Planeri*, Dohrn (1902) für die Selachier und Brauer (1904) für *Hypogeophis*. Von der ektodermalen Herkunft des hier in Betracht kommenden Mesenchyms bin auch ich überzeugt, trotzdem ich die von oben genannten Autoren als Bildungsstätte jenes Mesenchyms angegebenen Teile der Epidermis als solche nicht anerkennen kann.

Ich beginne mit der Entwicklung der neuralen Teile des Schädels von *Ammocoetes fluviatilis*.

III. Die Entwicklung der cranialen Teile des Skeletts.

Die ersten Anlagen von Teilen des primordialen Craniums treten bei *Ammocoetes* zu einer Zeit auf, wo die knorpeligen Stäbe des Visceralskeletts schon in Entwicklung begriffen sind. Während es sich beim Visceralskelett, wie oben erwähnt, um Gebilde des Ektoderms handelt, sind die knorpeligen Gebilde des neuralen Primordialcraniums durchaus Abkömmlinge des Mesoderms, und zwar beteiligen sich an der Bildung der Trabekel und Parachordalia die ersten Sklerotome, das sind mesenchymatische Zellmassen, die von den Ursegmenten aus seitlich neben der Chorda heraufwuchern. Der Ansicht von Koltzoff und Platt, dass die am weitesten kopfwärts liegenden Teile der Trabekel sich aus ektodermalen Derivaten formen sollten, kann ich nicht zustimmen, da die im parachordalen Gewebe entstehenden hinteren Teile der Trabekel und Parachordalia successive kopfwärts auswachsen und nicht durch Hinzukommen neuer Teile zu ihrer späteren Form gelangen.

Zuerst bilden sich neutral vom Gehirn zu beiden Seiten der Chorda durch Verdichtung der Mesodermzellen die gemeinsame Anlage der Parachordalia und Trabekel. Severtzoff lässt Parachordalia und Trabekel getrennt entstehen. Nach ihm verwachsen die an die Chorda herantretenden Trabekel mit denselben, vermittelt kleiner Knorpel, die er vordere Parachordalia nennt. Dieser Ansicht von der Bildung der Trabekel und Parachordalia kann ich mich nicht anschliessen. Wie ich aus meinen Präparaten erkennen kann, haben Parachordalia und Trabekel eine gemeinschaftliche Anlage und von einer Trennung kann nicht die Rede sein. Schon prochondral entstehen in der

Umgebung der Chorda durch Verdichtung der mesodermalen Mesenchymzellen einheitliche Leisten, die vor den Gehörkapseln nach vorn sich erstrecken (siehe Fig. 1). Auch ihre Verknorpelung vollzieht sich einheitlich. Dabei kapseln sich die Zellen in der von Schaffer (25) beschriebenen Weise ein (siehe Fig. 2).

Vorn endigen die Trabekel zuerst frei, vereinigen sich aber, indem sie die Hypophyse umgreifen, vor derselben zu der sogenannten Trabekularplatte.

Die Verknorpelung der Ohrkapsel wurde von Parker (21) und anderen Autoren

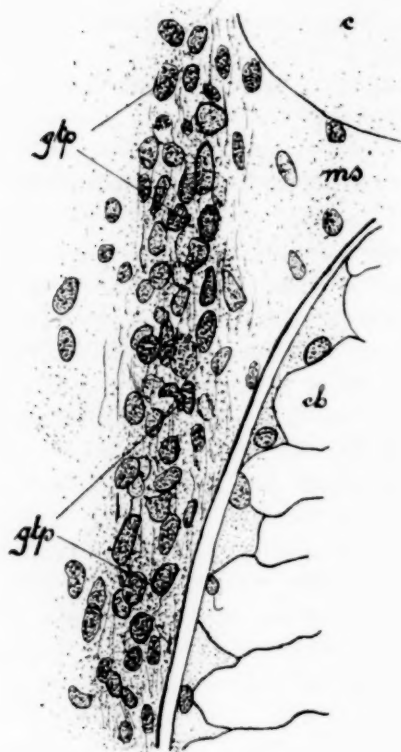


Fig. 1.

Ammocoetes von etwa 6 mm Länge.
gtp = Gemeinsame Anlage der Trabekel
und Parachordalia.

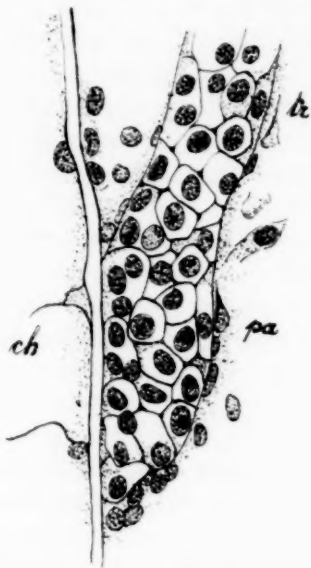


Fig. 2.

genau beschrieben, und ich habe ihrer Darstellung nichts hinzuzufügen. Anfangs durch einen Zwischenraum von den Parachordalia getrennt, verwachsen die Ohrkapseln im Laufe ihrer Entwicklung mit den Parachordalia. Durch die Fenestra acustica der Knorpelkapsel tritt der Acustico-Facialis in das Labyrinth ein.

Der Facialis verlässt aber die Ohrkapsel wieder durch ein an ihrem Boden gelegenes Foramen.

Aber auch hinter den Ohrkapseln treten bei *Ammocoetes* Gebilde auf, die man noch dem neuralen Schädel zurechnen muss. Es handelt sich hier um die zuerst von Sewertzoff (26) beschriebenen hinteren Parachordalia. Er beschreibt zwei längliche Knorpelplatten, die sich nach ihm aus Sklerotomgewebe in der Umgebung der Chorda in ähnlicher Weise differenzieren, wie es später mit den Wirbelbogen der Fall ist. Sie liegen nach Sewertzoff an der Chorda epachsial, das heisst dorsal von der Achse der Chorda. Diese beiden Gebilde bezeichnet er als hintere Parachordalia und homologisiert sie mit den gleichnamigen Gebilden der Gnathostomen. Weitere Angaben über die hinteren Parachordalia und ihre Verbindung mit dem Kiemenskelett finden sich in Abschnitt V. Am neuralen Primordialcranium von *Ammocoetes* ist es ausser den Trabekeln, Parachordalia und Labyrinthblase, nur noch die unpaare Nasenkapsel, die eine Verknorpelung erfährt. Die Entwicklung der Nasenkapsel wurde, soviel mir bekannt ist, noch von niemand beschrieben. Die Nasenkapsel entsteht um das Geruchsorgan herum, in dem zwischen Vorderhirn und Geruchsorgan befindlichen Mesenchym. Die erste vorknorpelige Anlage hat die Gestalt eines lateinischen „u“ und ist so gelagert,

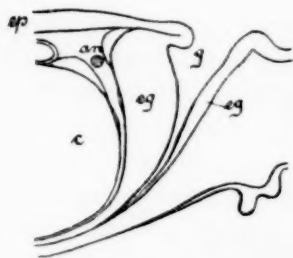


Fig. 3.

Medianschnitt durch den Kopf eines *Ammocoetes*. an = Anlage des Knorpel der Nasenkapsel.

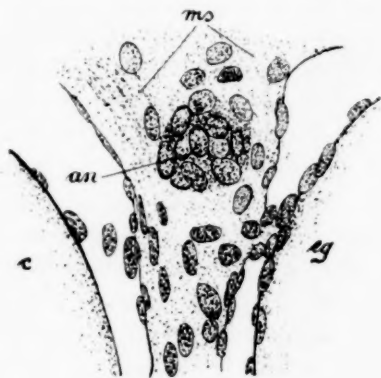


Fig. 4.

dass der Bogen sich über und hinter dem Geruchsorgan befindet (Fig. 3) und die beiden Äste an seinen beiden Seiten herabreichen. In Fig. 5 sind die beiden seitlichen Äste der larvalen

Nasenkapsel dargestellt; die Verknorpelung hat soeben begonnen. Fig. 3 und 4 geben ein Übersichtsbild und eine Vergrößerung eines Querschnittsbildes des dorsalen medianen Bogens der Nasenkapsel wieder. Die Mesenchymzellen fangen gerade an sich zu

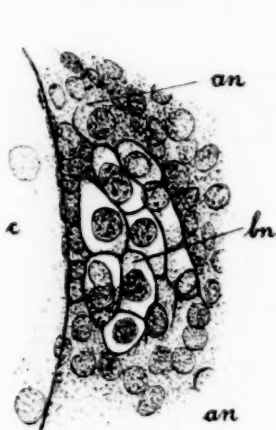


Fig. 5 a.



Fig. 5 b.

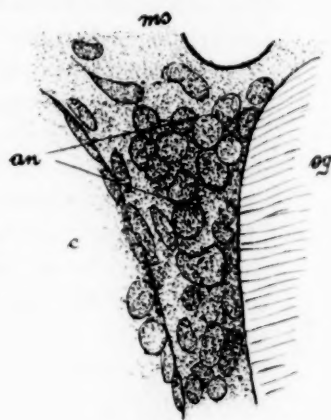


Fig. 5 c.

Knorpel zu verdichten. Die anfangs einfache „u“-förmige Nasenkapsel nimmt im Verlaufe ihrer Entwicklung eine mehr nach vorn ausgebogene Form an, die sie bis zur Metamorphose beibehält (Fig. 6). Fig. 7 a—f, Taf. IV sollen die vorliegenden Verhältnisse in mehreren Bildern einer Frontabschnittserie eines etwa 2,5 cm langen Ammocoeten klarlegen. Mit der Trabekularplatte, also der Verbindung der beiden Trabekel vor der Hypophysis, hängt



Fig. 6.

die Nasenkapsel bei Ammocoetes

knorpelig nicht zusammen. Man findet aber bei älteren Ammocoeten zwischen der Nasenkapsel und der Trabekularplatte eine Schleimknorpelmasse eingelagert (Fig. 8). Ebenso wie die Ohrkapseln ent-

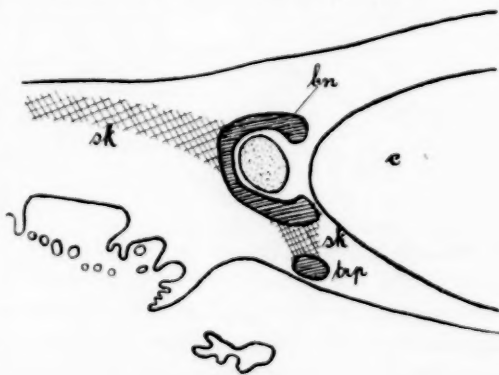


Fig. 8.

wickelt sich auch die Nasenkapsel unabhängig von den übrigen Skeletteilen des Kopfes. Bis zur Metamorphose hat die Nasenkapsel die oben beschriebene Gestalt. Ihre Umbildung zur fertigen Nasenkapsel des *Petromyzon* geht aber nicht in der Weise vor sich (Känsche [12]), dass sie im Perichondrium nach vorn, hinten und seitlich auswächst und so allmählich das Geruchsorgan einhüllt. Die die larvale Nasenkapsel zum fertigen Zustande ergänzenden vorderen und oberen Teile der fertigen fast halbkugelförmigen Nasenkapsel entstehen vielmehr selbständig im Perichondrium und verschmelzen erst dann mit den vorhandenen Teilen zu einem einheitlichen Ganzen. Diese Vorgänge vollziehen sich erst während der letzten Stadien der Metamorphose, zu einer Zeit, wo das übrige knorpelige Skelett schon vollständig vorhanden ist. In Fig. 9a—g, Taf. IV sind mehrere Bilder der in Metamorphose befindlichen Nasenkapsel wiedergegeben. Die mit roter Farbe versehenen Teile sind Knorpel der larvalen Nasenkapsel, die blauen Teile geben die neu sich bildenden Stücke wieder.

IV. Kiemenskelett.

Dohrn beschreibt in seiner V. Studie die Entstehung des Visceralskeletts von *Petromyzon Planeri*. Er spricht dort Seite 152 von den mesodermalen Visceralbogen und gibt als ihre innere Begrenzung das Entoderm der beiden sie begrenzenden Kiementaschen, als äussere Begrenzung das einschichtige Ektoderm an; ausserdem spricht er von Mesodermzellen rund um die Visceralbogen herum. Seite 183 schreibt Dohrn: „Gleichzeitig differenziert sich aus dem Mesodermgewebe des Bogens, aussen von der parietalen Schicht, zwischen ihr und der vorhergehenden Kiemenspaltenwandung, der zu dem Bogen gehörige Knorpel. Es ist schwer, etwas anderes zu sagen, als dass sich eine Anzahl Mesodermzellen zusammentun, eine auf dem Querschnitt runde Kontur erlangen und von nun an als Knorpel erkennbar werden.“ Dohrn spricht also den Kiemknorpeln eine rein mesodermale Abstammung zu. v. Kupffer (17) hat nun zuerst die Auffassung Dohrns von der mesodermalen Entstehung der Visceralknorpel zurückgewiesen und erklärt, dass sich die Kiemknorpel von Ammozoetes aus Derivaten des Ektoderms entwickelten. Ich kann mich voll und ganz der Auffassung von Kupffers anschliessen, wenn ich auch seine Beschreibung vom Ursprunge jener

aus dem Ektoderm stammenden Derivate, in denen sich der Knorpel bildet, nicht bestätigen kann.

v. Kupffer fand schon bei jungen Ammocoeten eine zweite tiefere Epidermisschicht, die sich in der Branchialregion von der Höhe des Trigemini den ganzen Kiemendarm entlang zwischen Ektoderm und Mesoderm hinzieht. Sie setzt sich aus einer Lage zylindrischer Zellen zusammen, die senkrecht zur Oberfläche stehen aber keinen engeren Zusammenhang unter sich und mit der Epidermis haben. Durch die sich ausstülpenden Kiementaschen wird diese Schicht in einzelne Abschnitte zerlegt, so dass jedem Kiemenbogen ein Streifen dieser Schicht zukommt (Fig. 10).

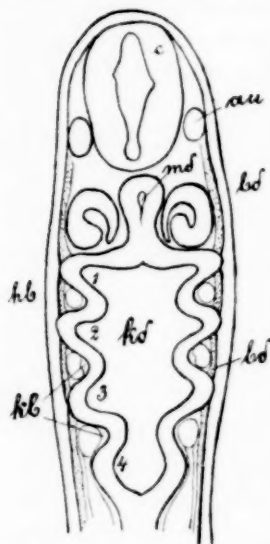


Fig. 10. Horizontalschnitt eines Ammocoetes von 3,4 mm Länge.

v. Kupffer nannte diese Schicht, da er sie bei der Bildung von Nerven beteiligt glaubte, zuerst Neurodermis, später gab er ihr den Namen Branchiodermis. Durch J. B. Platt wurde der Namen Mesektoderm eingeführt, ein Namen, den ich aus Gründen, die weiter unten zu sehen sind, nicht beibehalten werde. Ich spreche also von einer Branchiodermis und verstehe darunter nur die einschichtige Zellenlage, wie oben beschrieben. Bei der Frage nach der Abstammung der Branchiodermis stehen sich vor allem zwei Ansichten gegenüber: v. Kupffer einerseits lässt die Branchiodermis durch Auswanderung von Zellen der Epidermis aus den ventralen Teilen des Kopfes entstehen. Platt, Koltzoff, Dohrn und andere glauben in Zellen der Ganglienleiste, die durch

Proliferation in die Branchialregion gelangen, die Elemente der Branchiodermis erblicken zu können. Ich beginne mit der Arbeit v. Kupffers (17). Nach ihm verdickt sich die Epidermis der Ventralseite des Kopfes von Ammocoetes in einem Stadium, wo die Seitenlinie sich als ein einspringender Wulst der Epidermis auszuprägen beginnt. Durch den gesteigerten Seitendruck der lebhaft durch Längsteilung proliferierenden Zellen verschieben diese sich gegeneinander, und einzelne Zellen treten aus, die bei

fortgesetzter Teilung schliesslich eine kontinuierliche Lage bilden und wie eine Grundsicht der Epidermis erscheinen. Dieser Auffassung v. Kupffers kann ich mich nicht anschliessen. Einmal kann ich mir nicht vorstellen, wie sich eine doch relativ mächtige Schicht wie die Branchiodermis aus einzelnen hier und da auswandernden Zellen entwickeln soll, dann glaube ich, dass es sich hier um Zellen handelt, die infolge der bei der Behandlung der Ammonoeten unausbleiblichen künstlich hervorgerufenen Druckdifferenzen und der damit verbundenen Schrumpfung aus dem Verbanne der Epidermis hinausgepresst worden sind. Ich glaube das um so mehr behaupten zu können, da ich bei einzelnen meiner eigenen Schnittserien Stellen der Epidermis finde, bei denen Zellen nicht nur nach innen, sondern nach auch aussen auszutreten scheinen. Die zweite Ansicht von der Entstehung der Branchiodermis wird, wie schon oben kurz angegeben, hauptsächlich von Dohrn, Koltzoff und Platt vertreten. Schon Kastschenko (13) und später Platt (22—24) suchten nachzuweisen, dass die von der Ganglienleiste proliferierenden Zellen ausser zu Nerven und Ganglien auch zur Bildung von Mesenchym Verwendung fänden. Nach Platt und Koltzoff sollen alle Zellen der Ganglienleiste, die nichts mit der Bildung der Ganglien zu tun haben, von ihrer dorsalen Ursprungsstelle in die ventrale Kopfgegend auswandern, um sich dort mit Zellen, Zellgruppen und Streifen von Zellen zu vermischen, die sich von der inneren Seite des Ektoderms abgespalten haben. Alle diese Zellen, die Ganglienleiste mit einbegriffen, fasst Platt unter dem gemeinsamen Namen Mesektoderm zusammen. Aus diesem Mesektoderm sollen sich, wenn man Platt glauben wollte, Kiemen- und Kieferknorpel und Bindegewebe entwickeln. Alle diese Zellen, sowohl die vom Nervenrohr proliferierenden, als auch die vom seitlichen Ektoderm sich abspaltenden, haben, wie ich Koltzoff zugeben muss, Undeutlichkeit ihrer Umrisse, Dotterkörnerarmut und vor allem gleiche Färbbarkeit gemein, so dass es wenigstens bei *Petromyzon* fast unmöglich ist, sie voneinander zu unterscheiden. Trotzdem aber ist ein Unterschied vorhanden, die vom Gehirn kommenden Zellen werden zur Bildung der Nerven und Ganglien, und die vom Ektoderm sich abspaltenden Zellmassen zur Bildung der Branchiodermis verwandt, eine Tatsache, die weiter unten näher begründet wird. Ich behalte den v. Kupffer eingeführten

Namen Branchiodermis bei und spreche nicht von Mesektoderm, weil Platt und mit ihr andere Autoren unter Mesektoderm alle vom Nervenrohr proliferierenden und die vom äusseren Ektoderm stammenden Zellen zusammenfasst, es sich aber nur um gewisse, lediglich vom äusseren Ektoderm sich abspaltende Zellmassen handelt. Leider ist es mir nicht möglich, jene Fragen vollständig zu lösen. Einmal ist es nicht meine Aufgabe, jene Fragen zu untersuchen, dann aber, und das ist der Hauptgrund, kann man bei *Petromyzon* die hier in Betracht kommenden, vom Nervenrohr und äusseren Ektoderm stammenden Zellen so schwer unterscheiden, dass eine befriedigende Lösung fast unmöglich ist.

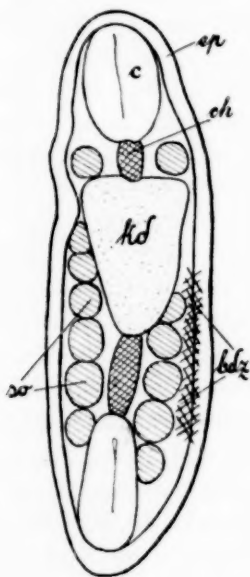


Fig. 11.

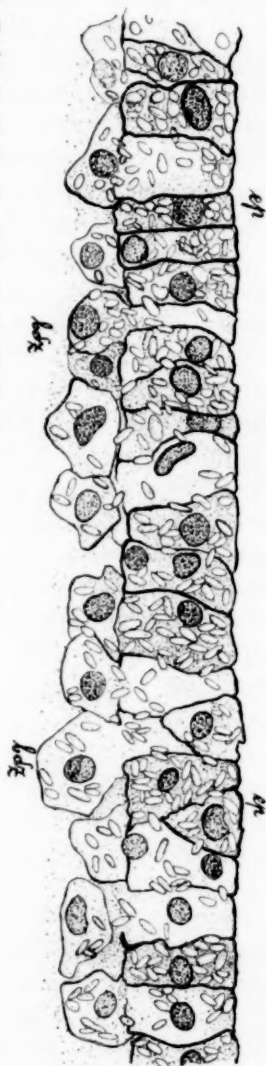


Fig. 12.

Bei *Petromyzon* geben Frontalschnitte Bilder, an denen wenigstens einiges abzulesen ist. Die jüngsten Ammocoeten, die hier Ver-

wendung fänden, waren ungefähr vom 10. Tage nach der Befruchtung, was aber nicht viel sagen will, da die verschiedenen Temperaturen des die Larven umgebenden Mediums beschleunigend oder verzögernd auf ihre Entwicklung einwirken. Es handelt sich hier um Tiere, bei denen der Kopf soeben anfängt sich abzuheben. Etwa in der Höhe der Chorda lösen sich am Auge anfangend den ganzen Kiemendarm entlang mehr oder weniger mächtige Zellgruppen vom äusseren Ektoderm ab, wandern ventralwärts und gelangen zwischen Ekto- und Mesoderm. Während bei ganz jungen Tieren dieses Auswandern von Zellen mehr an einem einzigen Streifen vor sich geht, der sich vom Auge an über die ganze Länge des Kiemendarms erstreckt, konzentrieren sich die Abscheidungen der die Branchiodermis bildenden Zellen bei etwas weiter vorgeschrittenen Ammocoeten mehr und mehr auf einzelne Stellen dieses Streifens, so dass sie den Plakoden (Nervenanlagen) v. Kupffers nahe kommen. Fig. 11, 12 und 15

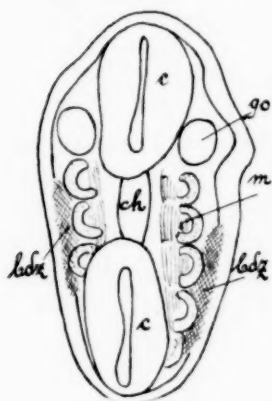


Fig. 15 a.

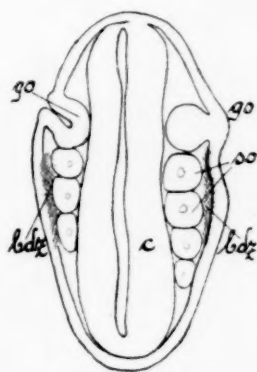


Fig. 15 b.

geben im Übersichtsbilde und in vergrössertem Maßstabe einen Teil jener langen leistenförmigen Plakoden des Ektoderms wieder, von der sich lebhaft Zellen abspalten, um sowohl nach vorn und hinten, besonders aber ventralwärts zu wandern, wie auf ventral folgenden Schnitten derselben Serie zu konstatieren ist. Auf den dorsal folgenden Schnitten desselben Präparates ist von einer Abspaltung keine Spur mehr zu merken. Ganz besonders lebhaft ist die Ablösung bei etwas älteren Tieren im Bereiche des gemein-

samen Trigeminus - Ganglions (Fig. 13 und 14). Wie ich aus Präparaten von Goette weiss, liegen bei *Siredon* vor dem Ohr zwei

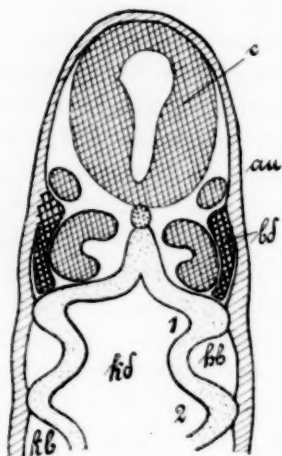


Fig. 13.

Ammocoetes von 3,4 mm.



Fig. 14.

Ammocoetes von 3,4 mm Länge.

bd = Branchiodermis.

solcher Plakoden, hinter dem Ohr eine kleine und eine grössere; bei *Petromyzon* ist aber die hintere grössere Plakode in mehrere kleinere Plakoden zerlegt (Fig. 16). Aus dieser zuerst einheitlich angelegten, später aber sich sondernden Plakode der Epidermis stammen also die ventralwärts wandernden Zellen, die die Branchiodermis zusammensetzen.

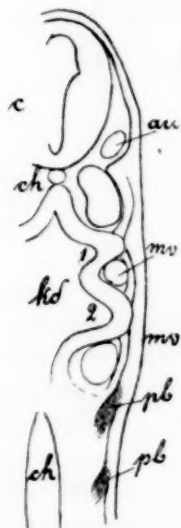


Fig. 16.

Schon bei Ammocoeten, die nicht ganz 4 mm Länge haben, findet Kupffer die ersten Anfänge der Knorpel in leistenförmigen Verdickungen der Branchiodermis, hart hinter dem lateralen, die Epidermis tangierenden Teil jeder Kiementasche. An der medial gerichteten Kante der Leiste zeigt sich auf Frontalschnitten die Anlage des Knorpels als kreisförmiger Durchschnitt einer Portion dicht aneinander geschmiegener Zellen der Branchiodermis. Bei seiner Beschreibung der Knorpelbildung hat v. Kupffer, wie mir scheint

einen wichtigen Faktor übersehen. Nach meinen Präparaten wird die Bildung der Knorpelspangen durch eine Verdickung des Ektoderms hart hinter jeder Kiementasche eingeleitet. In Fig. 17 ist ein Frontalschnitt eines Embryos mit sechs Kiementaschen, die hyomandibulare eingerechnet, wiedergegeben. Da die

Knorpelbildung successive von vorn nach hinten fortschreitet, ist erst die Epidermis der vorderen Kiementaschen verdickt. Wenn nun auch jene kleinen Plakoden möglicherweise an der Bildung der Branchialnerven Anteil haben, so glaube ich doch behaupten zu können, dass ein Teil der aus jenen Epidermisplakoden auswandernden Zellen bei der Bildung der Kiemenknorpel verwandt werden. Erst nachdem nämlich die in Frage kommenden



Fig. 17.

Ammocoetes von 3,7 mm Länge.
Die Plakoden der Epidermis sind
schraffiert.

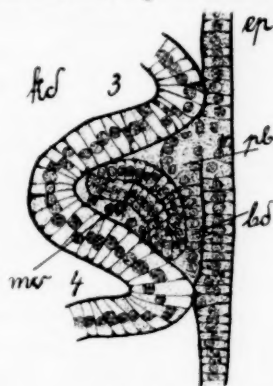


Fig. 18.

Ammocoetes von 4 mm Länge.
1. Kiemenbogen.

Zellen angefangen haben, aus der Epidermis hervorzutreten, tritt auch in benachbarten Teilen der Branchiodermis Zellvermehrung ein. Die aus dem Ektoderm und der Branchiodermis stammenden Teile vermischen sich, und es entsteht so die von Kupffer beschriebene leistenförmige Verdickung der Branchiodermis. Man kann daran nicht mehr feststellen, welche Zellen ursprünglich dem Ektoderm und welche der Branchiodermis angehört haben.

In Fig. 18 ist das Auswandern der Zellen aus der Epidermis und die Vermischung mit Teilen der Branchiodermis im Gange. Die Knorpelbildung beginnt am ersten Kiemenbogen nach hinten fortschreitend. In Fig. 19 ist der Frontalschnitt eines Ammocoeten

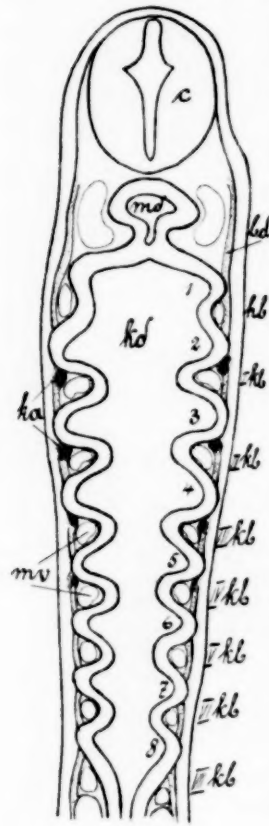


Fig. 19.

Ammocoetes von 4,3 mm
Länge.

ka = Kiemenspaltenknorpelanlage.

wiedergegeben, bei dem alle Kiementaschen entwickelt sind. Die Knorpelbildung ist im 1.—4. Kiemenbogen im Gange, und der spätere Knorpel schon als dunklere Masse in den am weitesten gegen die Muskelschläuche vorgestülpten Teilen der Branchiodermis zu erkennen. Am 6.—8. Bogen ist eine Knorpelbildung noch nicht zu erkennen, ebenso fehlt dem Hyoidbogen eine solche. Fig. 19 entspricht ungefähr Fig. 1 der Figuren von Kupffers (17). Ist die Knorpelanlage aus dem Verbande mit der Branchiodermis herausgetreten, so rückt sie, wie es Dohrn (4) beschreibt, gegen den bei der Bildung der Kiementaschen aus dem ursprünglichen Mesoderm abgeschnürten Muskelschlauch jedes Visceralbogens vor. Waren die Muskelschläuche ursprünglich drehrunde Gebilde, so haben sie sich im Laufe ihrer Entwicklung abgeplattet und gegen den Kiemendarm zu geknickt. An der Knickungsstelle teilt sich der Muskelschlauch in eine innere (Adduktoren-) und in eine äussere (Constriktoren-) Partie, zwischen beide schiebt sich die Knorpelanlage ein.

Der in Höhe der späteren Kiemen-
spalten entstandene Knorpel wächst nun
kontinuierlich dorsal (gegen die Chorda)
und ventral vor. So entstehen jederseits die sieben Skelettspangen
der Kiemenbogen, von den Autoren Querstäbe genannt. Die
ursprünglich geraden Spangen machen im Verlaufe ihrer Ent-
wicklung mehrfache Biegungen, so dass sie bald lateralwärts, bald
visceralwärts von der Muskulatur zu liegen kommen: Im Hyoid-

bogen bildet sich gewöhnlich eine Spange nicht aus. Aber schon Schaffer fand bei einem Ammocoeten von 9 cm Länge das Rudiment eines achten Querstabes an der vorderen Grenze der ersten mit Kiemen ausgestatteten Kiementasche und schloss daraus, dass kopfwärts von der ersten Kiementasche der ausgebildeten Larve auch eine 8. beziehungsweise wirklich 1. Kiementasche oder das Rudiment einer solchen gesucht werden müsse. Hätte Schaffer (25) zu seinen Untersuchungen auch jüngere Larven herangezogen, so hätte er ohne weiteres feststellen können, dass eine 8. Kiementasche vor dem Hyoidbogen vorhanden ist, die sich aber bald zurückbildet und keine Kiemen entwickelt. Aber auch ich fand bei einem Ammocoeten von 5,5 mm Länge die knorpelige Anlage eines 8. Querstabes (Fig. 20 b). In Fig. 20 a gebe ich die auf die Medianebene projizierten Verhältnisse wieder. Auch bei meinen Präparaten entspricht der Abstand dieser 8. oder besser 1. Skelettspange von den übrigen Stäben dem Abstände dieser unter sich. Unter normalen Verhältnissen findet man an der Stelle dieser 8. Spange eine Schleimknorpelbildung, die erst während der Metamorphose in Hyalinknorpel umgewandelt wird und dann das sogenannte Extrahyale bildet.

Die ventralen und dorsalen Enden der sechs hinteren Querstäbe biegen sich nun kopfwärts um (Fig. 21). Dorsal verbinden

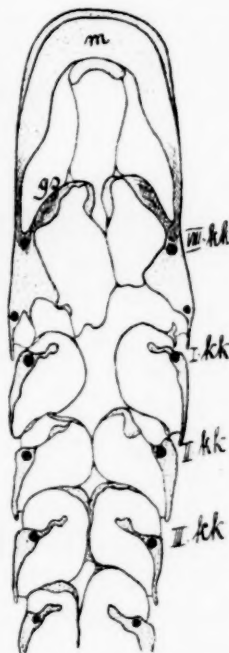


Fig. 20 b.

Ammocoetes von 5,5 mm Länge.

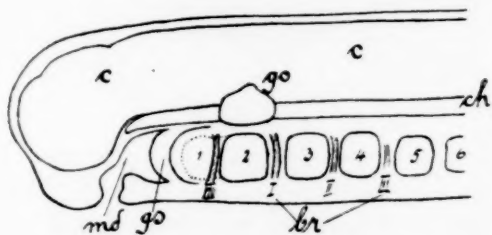


Fig. 20 a.

sich die umgebogenen Enden schon prochondral mit parachordalen Längsleisten, die sich in dem um die Chorda befindlichen mesodermalen Bindegewebe differenzieren. Die Verknorpelung geht von den Querspangen aus und schreitet in den parachordalen

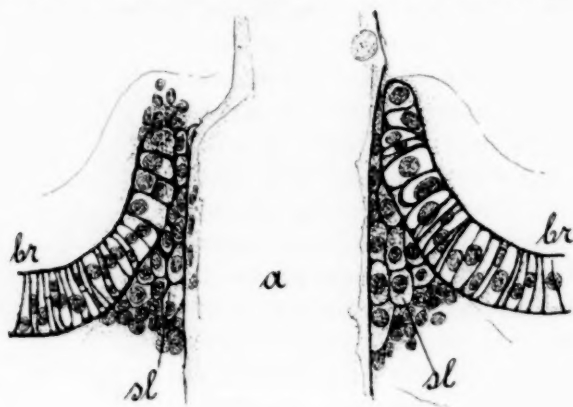


Fig. 21.

Längsleisten kopf- und kaudalwärts fort, so dass hammerförmige Gebilde entstehen. Schliesslich vereinigen sich die Parachordalia bei Larven von etwa 1 cm Länge zu einheitlichen Gebilden, denen Schaffer (25) den Namen „subchordale Längsstäbe“ gegeben hat. Mit der Chorda sind die subchordalen Längsstäbe nicht direkt verbunden. Es ist vielmehr zwischen Knorpel und Elastica stets ein vom Perichondrium angefüllter Raum vorhanden. In Fig. 22 ist die Anlage einer jener parachordalen Längsleisten

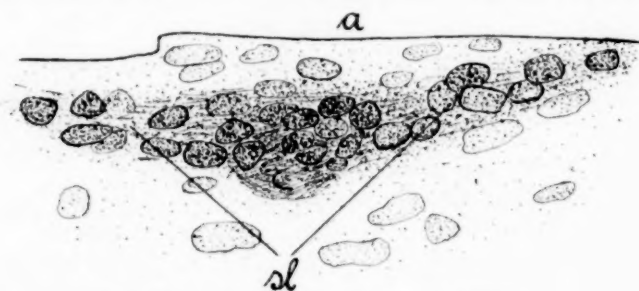


Fig. 22. Ammocoetes von 6 mm Länge.

dargestellt. Die Stelle, an der sich der Querstab mit dem Parachordale verbindet, ist nur schwach angedeutet. Die ganze An-

lage ist spindelförmig. Fig. 23 zeigt die Verschmelzung des Querstabes mit den Längsleisten und die fortschreitende Verknorpelung. Wie schon angedeutet, biegen sich die ventralen Enden der sechs hinteren Querstäbe kopfwärts um, wachsen aus und vereinigen sich bald zu den „ventralen Längsstäben“, wie sie Schaffer bezeichnet hat. Eine den dorsalen parachordalen

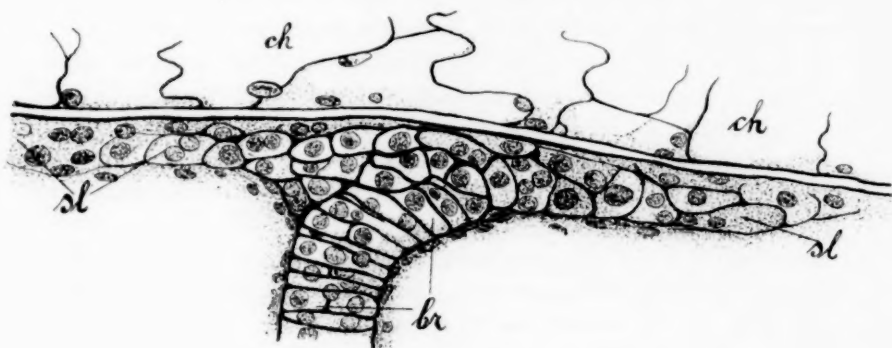


Fig. 23.

Längsleisten ähnliche Anlage ist ventral nicht vorhanden. In Fig. 24 ist der nach vorn umgebogene ventrale Teil eines Querstabes dargestellt. Die links in der Figur sichtbaren Knorpelzellen stammen von dem nächsten kaudalwärts gelegenen Querstabe.

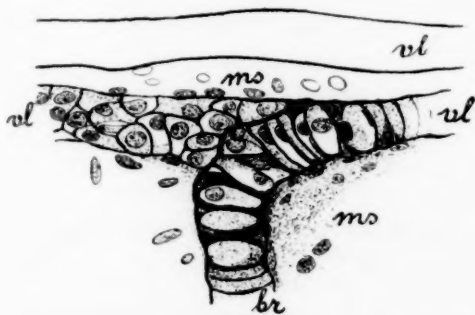


Fig. 24.

dessen nach vorn umgebogenes und ausgewachsenes Ende sich mit dem ventralen Ende des vorderen Querstabes zum ventralen Längsstab vereinigt hat. Die ursprünglich geraden ventralen Längsstäbe biegen sich von der 5. Kiementasche an nach vorn

immer weiter auseinander, um die immer mächtiger werdende Thyreoidea aufzunehmen. Beiderseits bilden die ventralen Längsstäbe weiterhin sechs medianwärts gerichtete Ausbiegungen und zwar immer zwischen zwei benachbarten Querstäben. Die gegenüberliegenden Bogen der ventralen Längsstäbe, die hinter der Thyreoidea, also unter der 5., 6. und 7. Kiementasche liegen, verwachsen miteinander. Dass es sich dabei um eine echte Verwachsung handelt (Schaffer), kann ich bestätigen. Diese teilweise Verwachsung der beiden ventralen Längsstäbe beginnt schon bei Ammocoeten von nicht ganz 1 cm Länge.

Die ursprünglich trotz mancher Biegungen fast in einer Querebene liegenden sieben Querspangen entwickeln bald dorsal und ventral von den äusseren Öffnungen der Kiementaschen kopfwärts gerichtete longitudinale knorpelige Fortsätze. Während die unteren Fortsätze je den vorderen Querstab erreichen und so den von Schaffer benannten „hypotremalen Längsstab“ bilden, endigen die über den Kiemenöffnungen gelegenen Fortsätze frei, ohne die vorderen Bogen zu erreichen. Der sogenannte „epitremale Längsstab“ Schaffers ist also kein einheitliches Gebilde. Auch der erste Querstab bildet je einen hypo- und epitremalen Fortsatz,

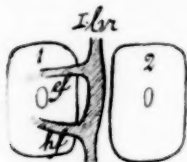


Fig. 25.

die ursprünglich freien (Fig. 25), sich aber bald zu einer Knorpelschlinge vereinigen, indem sie das erste Kiemenloch umgreifen. Fig. 26 gibt



Fig. 26.

die etwas unregelmässig ausgefallene Verwachsungsstelle der beiden in Frage kommenden Längsauswüchse wieder. Der hier abgebildete Ammocoetes war etwa 8 mm lang.

V. Verbindung zwischen Cranial- und Visceralskelett.

Branchiale I und hintere Parachordalia vermitteln die Verbindung zwischen Kopf- und Kiemenskelett. Über die Art und Weise, wie diese Verbindung stattfindet, sind die Autoren nicht einig. Schon im Vorknorpelstadium kommt eine Verbindung der hinteren Parachordalia mit den kopfwärts umgebogenen Enden

der ersten Querstäbe des Visceralskeletts zustande. Diese Verbindung erfolgt nach Severstoff (26) dadurch, dass die proximalen Enden der Querstäbe den kaudalen Enden der hinteren Parachordalia anwachsen. Schaffer dagegen schildert das Zustandekommen der Verbindung zwischen Branchiale I und dem neuralen Cranium anders. Nach ihm wächst das umgebogene Ende des ersten Querstabes kopfwärts aus und verbindet sich mit den kaudalen Enden des Schädelbalkens. Teilweise haben beide Autoren recht. Nach meinen Beobachtungen legen sich die hinteren Parachordalia getrennt von den Branchialia I an, aber schon pronchondral verwachsen diese Parachordalia mit den von unten an sie heranwachsenden Enden der ersten Querstäbe. Die proximalen Enden der Querstäbe biegen sich kopfwärts um, wachsen kopfwärts noch etwas weiter und verlieren sich schliesslich. So ist es erklärlich, dass hintere Parachordalia und Branchialia I eine Strecke weit untereinander verlaufen. Diese Verhältnisse sind in

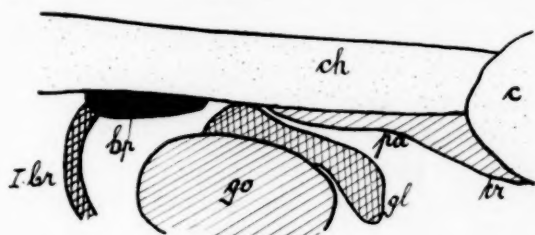


Fig. 27.

Fig. 27—31 dargestellt. Fig. 27 und 28 sind zwei aufeinander folgende Schnitte einer Frontalserie eines Ammonoites.

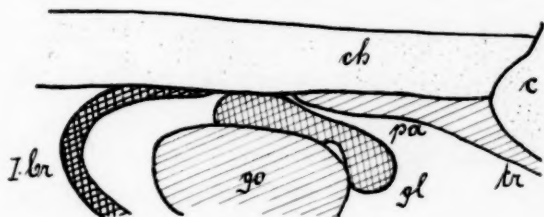


Fig. 28.

In Fig. 27 soll das hintere Parachordale dargestellt sein, während Fig. 28 das darunter liegende nach vorn umgebogene Ende von Branchiale I zeigen soll.

In Fig. 29 sieht man das in Verknorpelung begriffene hintere Parachordale.

Fig. 30 gibt dagegen beide in Betracht kommende Anlagen wieder. Mehr dorsal und epachial liegt das hintere Parachordale,

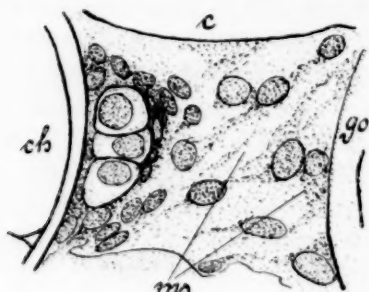


Fig. 29.

darunter das proximale Ende von Branchiale I. Der Schnitt ist an der Stelle geführt, wo Branchiale I und Parachordale zusammentreffen, liegt also etwas mehr kaudalwärts als der in Fig. 29 abgebildete Querschnitt.

Fig. 31 endlich zeigt die Verhältnisse von Fig. 28, nur in vergrößertem Maßstabe. Der in Fig. 31 abgebildete Schnitt ist etwa in Höhe a/b geführt, wie aus Fig. 30a zu ersehen ist. Schon die Lageanordnung der Knorpelzellen lässt deutlich erkennen, dass es sich hier um zwei getrennte Dinge handelt.

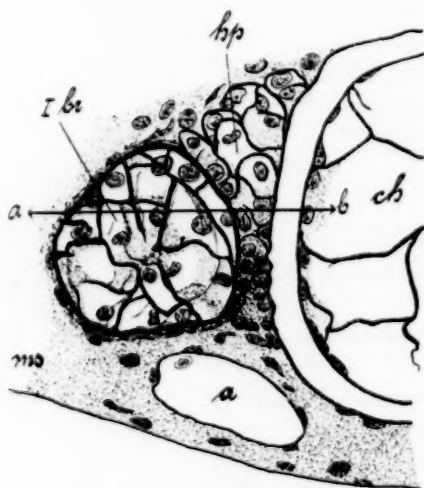


Fig. 30a.

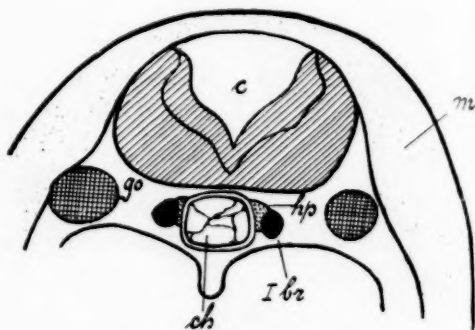


Fig. 30b.

Während die geldrollenförmig aufeinander sitzenden zylindrischen Zellen von Branchiale I mit ihren Breitseiten senkrecht zur Streichrichtung des Knorpelstabes angeordnet sind, haben sich die Zellen der hinteren Parachordalia mit ihren Breitseiten an die Chorda

angelegt und beweisen, dass es sich um parachordale Anlagen handelt. Die Anordnung der Zellen der Branchialia ist auch in Fig. 21 deutlich zu erkennen. Noch einen wichtigen Unterschied zwischen subchordalen Längsstäben und hinteren Parachordalia muss ich hier erwähnen. Während nämlich die subchordalen

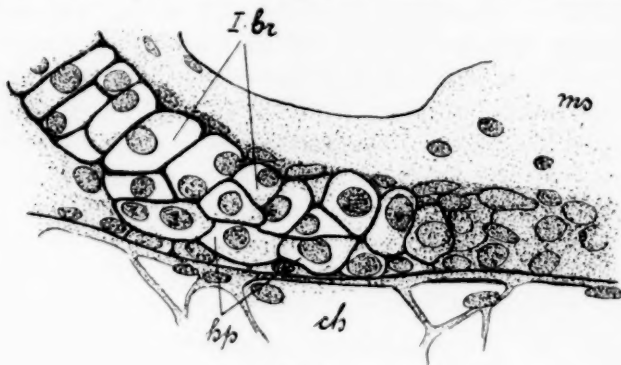


Fig. 31.

Längsstäbe von der Chorda durch Perichondrium getrennt sind, lagern sich die hinteren Parachordalia so eng der Elastica an, dass diese als Grenzschiebt des Knorpels erscheint. Dasselbe Verhalten zeigen auch die Trabekel. Auch aus diesem Grunde muss man notwendigerweise die hinteren Parachordalia dem neuralen Cranium zusprechen.

Im Laufe der Entwicklung verbinden sich hintere Parachordalia und Trabekel und bilden dann den knorpeligen Boden des chordalen Schädelabschnittes. Auch mit der knorpeligen Labyrinthblase, und zwar mit deren medial ventralem Rande, verbindet sich das Parachordale eine Strecke weit.

VI. Vergleiche.

Eine wichtige Tatsache ergibt sich aus den vorliegenden Untersuchungen. Ist man von der Gleichartigkeit der histogenetischen Prozesse überzeugt, so schliesst man mit Recht, dass das Visceralskelett, das für Cyclostomen, Teleostier, Urodelen und Gymnophionen als ein äusseres nachgewiesen wurde, auch bei den Vertretern der übrigen Klassen der Wirbeltiere ein äusseres sein muss. Ist dieses aber richtig, so kann man diese Tatsache als Beweis gegen die von Gegenbaur (30) ins Leben

gerufene und von seiner Schule weiter ausgebauten Kiemenbogen-theorie verwerten. Nach dieser Theorie soll der Urtypus des Skeletts der paarigen Gliedmaßen der Wirbeltiere von dem Kiemenskelett abzuleiten sein. Dieses älteste Extremitätenskelett soll sich in der Flosse der fossilen Pleuracanthiden zeigen und sich noch heute bei *Ceratodus forsteri* erhalten haben. Bedeutendere Umbildungen führten von hier zur Entwicklung des Skeletts der fünf-fingrigen oder pentadaktylen Extremität (*Chiropterygium*) der auf dem Lande lebenden Wirbeltiere. Die neuesten Untersuchungen auf diesem Gebiete stammen von Braus (28, 29), der auch an der Abstammung des Extremitätenskeletts von Kiemenbogen festhält. Einer der wichtigsten Einwände gegen die Kiemenbogentheorie des Extremitätenskeletts stammt von Dohrn (5). Trotzdem nun die Einwände Dohrns von der grössten Wichtigkeit sind, behandelt Braus Dohrns Untersuchungen nur in einer kurzen Anmerkung Seite 416 (29). Er schreibt dort: „Dohrn hat in seiner neuesten Studie (Mitt. d. St. Neapel, 1902) die Mitteilung gemacht, dass sich die Visceral-bogen aus dem Ektoderm entwickelten. Es wäre dies eine Bestätigung der bisher vereinzelt gegebenen Angaben von J. Platt und anderen, welche ebenfalls eine derartige Herkunft gesehen zu haben glaubten. Bei den Extremitätenbogen hält dagegen Dohrn an der bisherigen Ansicht fest, dass sie mesodermal angelegt werden. Dieser histiogenetische Unterschied erscheint dem Autor gross genug, um a priori jede Vergleichbarkeit der beiderlei Skelettelemente auszuschliessen. Ich will hier nicht darauf eingehen, dass ähnliche Angaben einer Herleitung von Skelettbildnern aus dem Ektoderm bisher bei der Nachprüfung als tatsächlich unrichtig erwiesen wurden.“ Soweit Braus. Vor allem ist es bewiesene Tatsache, dass sich Teile des Skeletts aus dem Ektoderm bilden, auch meine Untersuchungen bestätigen die diesbezüglichen Angaben. Dann ist es mir nicht bekannt, dass eine „genaue“ Nachprüfung die Untersuchungen über die ektodermale Herkunft des Kiemenknorpels als unrichtig erwiesen hätte. Gerade das Gegenteil ist der Fall. Die von Kupffer angestellten diesbezüglichen Untersuchungen wurden von Dohrn, Koltzoff, Platt u. a. bestätigt. Auch ich kann nur die Richtigkeit der Resultate jener Untersuchungen anerkennen. Die Kiemenknorpel sind also ektodermale Gebilde. Andererseits steht es fest, dass

die Extremitätenbögen mesodermal angelegt werden. Da man nun schlechterdings Gebilde, die einerseits ektodermal entstehen, andererseits mesodermalen Ursprung haben, nicht als homodynam bezeichnen kann, so halte ich auch jede Vergleichbarkeit zwischen Kiemen- und Extremitätenskelett von vornherein für ausgeschlossen.

Noch eine andere Tatsache ergibt sich aus den vorliegenden Untersuchungen. Wie oben gezeigt wurde, haben die kranialen Teile des Skeletts mesodermalen, das Visceralskelett aber ektodermalen Ursprung. Ein Vergleich zwischen beiden, wie es vielfach geschehen ist, ist also ebenfalls ausgeschlossen, und man kann mit vollem Recht das Visceralskelett dem Skelett des neuralen Craniums als genetisch verschiedenartig gegenüberstellen.

Literaturverzeichnis.

1. Brauer, Aug.: Beiträge zur Kenntnis der Entwicklung und Anatomie der Gymnophionen. IV. Die Entwicklung der beiden Trigeminalganglien. Zool. Jahrb., Suppl. - Bd. VII, 1904 (Festschr. z. 70. Geburtst. des Herrn Geh.-Rats Prof. Dr. August Weismann in Freiburg i. B.).
2. Bujor, Paul: Contribution à l'étude de la Métamorphose de l'Ammocoetes branchiales en *Petromyzon Planeri*. Thèse prés. à la faculté des Sciences de l'Université de Genève. Extr. de la Revue biologique du nord de la France, T. III, 1891.
3. Corning: Über einige Entwicklungsvorgänge am Kopfe der Anuren.
4. Dohrn, A.: Zur Entstehung und Differenzierung der Visceralbogen bei *Petromyzon Planeri*. Studien zur Urgeschichte des Wirbeltierkörpers V. Mitteil. aus der Zool. Station zu Neapel, Bd. V, H. 1, 1884.
5. Derselbe: Studien zur Urgeschichte des Wirbeltierkörpers XXII. Weitere Beiträge zur Beurteilung der Occipitalregion und der Ganglienleiste der Selachier. Ebenda, Bd. XV, H. 4, 1902.
6. Goette, A.: Die Entwicklungsgeschichte der Unke (*Bombinator igneus*) als Grundlage einer vergl. Morphologie der Wirbeltiere. Leipzig 1875.
7. Derselbe: Über die Kiemen der Fische. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. XIX, 4, 1901.
8. Derselbe: Lehrbuch der Zoologie, 1902.
9. Goronowitsch: Untersuchungen über die Entwicklung der sogenannten Ganglienleisten am Kopfe der Vogelembryonen. Morph. Jahrb., 20. Bd., 1893.
10. Hertwig, O.: Handbuch der vergleichenden und experimentellen Entwicklungsgeschichte der Wirbeltiere, 3. Bd., 2. Teil.
11. Huxley, Thomas H.: On the nature of the craniofacial apparatus of *Petromyzon*. Journal of Anatomy and Physiology, Vol. X, Pt. 2, 1876.

12. Kaensche, C. Conrad: Beiträge zur Kenntnis der Metamorphose des *Ammocoetes branchialis* in *Petromyzon*. Schneider, Zool. Beiträge, Bd. II, 3, 1889.
13. Kastschenko, N.: Zur Entwicklungsgeschichte des Selachierembryos. Anat. Anz., Bd. III, 1888.
14. Koltzoff: Entwicklungsgeschichte des Kopfes von *Petromyzon Planeri*. Bulletin de la Société Impériale des Naturalistes de Moscou, T. XV, 1902, Nr. 3 und 4.
15. v. Kupffer, C.: Studien zur vergleichenden Entwicklungsgeschichte des Kopfes der Cranioten, 2. Heft: Die Entwicklung des Kopfes von *Ammocoetes Planeri*, 1894.
16. Derselbe: Studien zur vergleichenden Entwicklungsgeschichte des Kopfes der Cranioten, 3. Heft: Die Entwicklung der Kopfnerven von *Ammocoetes Planeri*, 1895.
17. Derselbe: Über die Entwicklung des Kiemenskeletts von *Ammocoetes* und die organogene Bestimmung des Exoderms. Verh. d. Anat. Ges. a. d. 9. Vers. in Basel. Ergänzungsheft z. Bd. X d. Anat. Anz., 1895.
18. Müller, Johannes: Vergleichende Anatomie der Myxinoiden der Cyclostomen mit durchbohrtem Gaumen. Erster Teil: Osteologie und Myologie. Abh. d. Berliner Akad. d. Wiss. (Phys.-math. Abt.), Jahrg. 1834, Berlin 1835.
19. Nestler, Karl: Beiträge zur Anatomie und Entwicklungsgeschichte von *Petromyzon Planeri*. Arch. f. Naturgesch., Jahrg. 56, Bd. I, 1890.
20. Neumeyer, L.: Zur vergleichenden Anatomie des Kopfskeletts von *Petromyzon Planeri* und *Myxine glutinosa*. Münchener med. Abh., 7. Reihe, H. 7, 1898.
21. Parker, W. K.: On the skeleton of the Marsipobranchfishes. Philos. Transact. of the Roy. Soc. of London. For the Year 1883.
22. Platt, Julia: Ontogenetische Differenzierung des Ektoderms in *Necturus*. Arch. f. mikr. Anat., 43. Bd., 1894.
23. Derselbe: The development of the cartilaginous skull and of the branchial and hypoglossal musculature in *Necturus*. Morph. Jahrb., Bd. 25, H. 3, 1897 (Jahresz. d. Bd. 1898).
24. Derselbe: Ectodermic origin of the cartilages of the head. Tufts College Studies Nr. 1, 1904. (Abdruck des Aufsatzes im Anat. Anz., Bd. VIII.)
25. Schaffer, J.: Über das knorpelige Skelett von *Ammocoetes branchialis* nebst Bemerkungen über das Knorpelgewebe im allgemeinen. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 61, 1896.
26. Sewertzoff, A.: Beitrag zur Entwicklungsgeschichte des Wirbeltierschädels. Vorläufige Mitteil., Anat. Anz., Bd. XIII, 1897.
27. Ziegler, H. E.: Zool. Wörterbuch. Jena 1909.
28. Braus, H.: Die Muskeln und Nerven der *Ceratodus*-Flosse. Ein Beitrag zur vergleichenden Morphologie der freien Gliedmaßen bei niederen Fischen und zur Archipterygiumtheorie.

29. Derselbe: Tatsächliches aus der Entwicklung des Extremitätenskeletts bei den niedersten Formen. Zugleich ein Beitrag zur Entwicklungsgeschichte des Skeletts der Pinnae und der Visceralbogen. Jenaische Denkschriften, XI. Bd. 1904, Festschr. Ernst Haeckel.
30. Gegenbaur, C.: Vergleichende Anatomie der Wirbeltiere mit Berücksichtigung der Wirbellosen, Bd. I, Leipzig 1898.

Figurenerklärung.

Allgemein gültige Bezeichnungen:

a = Aorta.	hf = Hypotremaler Fortsatz.
ab = Aortenbogen.	hp = Hintere Parachordalia.
al = Alisphenoid.	hy = Hypophysis.
an = Anlage der Knorpel der Nasenkapsel.	ka = Kiemenknorpelanlage.
au = Auge.	kb = Kiemenbogen.
bd = Branchiodermis.	kd = Kiemendarm.
bdz = Branchiodermis in Bildung begriffen.	kk = Kiemenspannen (Querstäbe).
bn = Knorpel der Nasenkapsel.	m = Muskeln.
br = Branchiale (Kiemenspange).	md = Mundbucht.
c = Hirn.	ms = Mesenchym.
ctr = Cornu trabec.	mv = Muskelplatte der Visceralbogen.
ch = Chorda.	nf = Falten der Riechschleimhaut.
d = Darm.	ng = Nasengaumengang.
dr = Drüsen des Geruchsorgans.	nr = Nasenrohr.
ef = epitremaler Fortsatz.	pa = Parachordalia.
eg = Epithel des Geruchsorgans.	pb = Plakode der Branchiodermis.
ep = Epidermis.	pl = parachordaler Leisten.
g = Geruchsorgan.	sl = subchordaler Längsstab.
gl, gl = Ganglien.	sk = Schleimknorpel.
go = Gehörorgan.	so = Somit.
gs = Gaumensegel.	tr = Trabekel.
gtp = Gemeinsame Anlage der Trabekel u. Parachordalia.	trp = Trabekularplatte.
hb = Hyoidbogen.	vl = ventraler Längsstab.
	1—8 = Kiementaschen 1—8.

In Fig. 9 bedeuten „rot“ die larvalen, „blau“ die ergänzenden Teile der knorpeligen Nasenkapsel.

Die zentralen Sinnesorgane bei *Petromyzon*.

Von

D. Tretjakoff, Odessa.

Hierzu Tafel V und VI.

Einleitung und Methode.

Bei *Amphioxus* und bei den Tunikaten sind einige Sinnesorgane im zentralen Nervensystem eingeschlossen, die, im Gegensatz zu den peripherischen Sinnesorganen, „zentrale Sinnesorgane“ darstellen. Man hat bis jetzt diesen Gegensatz zwischen den zentralen und peripheren Sinnesorganen niemals in einer konsequenten Weise durchgeführt, denn man glaubte, dass die zentralen Sinnesorgane vielleicht in einer sehr nahen genetischen Beziehung zu den peripheren Sinnesorganen der Vertebraten standen und dass die Reize für diese Organe jedenfalls von aussen, von der Peripherie des Körpers her, an sie gelangten. Es ist aber in letzter Zeit sehr wahrscheinlich gemacht worden, dass auch bei den Vertebraten im zentralen Nervensystem Sinnesorgane vorhanden sind, welche für keine ausseren Reize oder für diese doch nur auf indirektem Wege erreichbar sind und aus diesem Grunde, meiner Meinung nach, wirklich die Bezeichnung „zentrale Sinnesorgane“ verdienen, wobei jedoch diese Bezeichnung nur ein ausschliesslich topographisches Merkmal der fraglichen Organe ausdrücken soll. Solche zentralen Sinnesorgane fand ich nun ausgezeichnet ausgebildet bei *Petromyzon fluviatilis*.

Ich möchte vor allem darauf hinweisen, dass die aus Sinneszellen bestehenden zentralen Sinnesorgane eine sehr wichtige theoretische Bedeutung in der Frage über die Phylogenie des zentralen Nervensystems bei den Vertebraten haben. H. E. Ziegler (58) hat in seinem „Lehrbuch der vergleichenden Entwicklungsgeschichte der niederen Wirbeltiere“ schon gesagt, dass der in der Ontogenese hervortretende topographische Zusammenhang des Blastoporus mit der Medullarplatte auf ihre enge phylogenetische Beziehung hinweisen könne und dass zur Zeit, als der Blastoporus bei den Wirbellosen Mund war, die Medullarplatte eine Flimmerrinne darstellte, welche zum Mund führte, ähnlich dem Flimmerstreifen, welcher an der ventralen Seite der Trochophora von

Anneliden und Mollusken verläuft. „Nachdem der Neuralkanal seine Verbindung mit dem Darm verloren hatte, hatte vielleicht das Epithel des Zentralkanal noch lange Zeit die Funktion eines Sinnesepithels, bis im weiteren Gange der Stammesentwicklung auch der Verschluss des vorderen Neuroporus erfolgte.“

Ich will aber die Angaben anderer Forscher, welche die Voraussetzung von Ziegler weiter zu entwickeln und zu modifizieren versuchten, hier nicht sammeln: es genügt zu sagen, dass die Medullarplatte der Urvertebraten immer noch als eine Sinnesepithelplatte aufgefasst wird. Ich glaube in dieser Arbeit zeigen zu können, dass diese Auffassung nicht nur embryologisch, sondern auch vergleichend-anatomisch berechtigt ist.

Im Rückenmark von *Ammocoetes* hat Kolmer (32) bereits kleine unipolare Zellen beschrieben, die er als Übergangsformen von Ependymzellen zu Nervenzellen bezeichnet hat. In meiner Arbeit über das Nervensystem von *Ammocoetes* (53) widmete ich diesen Zellen auch einige Bemerkungen, indem ich der Ansicht von Kolmer im allgemeinen zustimmte. Ich versuchte nur die Äusserungen von Kolmer über die Bedeutung dieser Zellen, die ich vorläufig als „intraependymale Zellen“ bezeichnen möchte, in einigen Punkten zu korrigieren, da nach meiner Meinung diese intraependymalen Zellen keine Übergangsformen von Ependymzellen zu Nervenzellen darstellen, wie Kolmer meinte, sondern sie sind überhaupt nur wenig differenzierte Nervenzellen, welche sich aus den Neuroblasten umgeformt haben. Die vorliegende Untersuchung beweist, dass ich in dieser Beziehung näher an der Wahrheit war, als Kolmer. Zu der Beschreibung von Kolmer konnte ich damals noch hinzufügen, dass die intraependymalen Zellen eigentlich nicht unipolar, wie Kolmer behauptete, sondern wenigstens bipolar sind. Die fragliche Zelle wird nämlich ausser mit einem peripheren, verzweigten Fortsatz noch mit einem kurzen, zwischen den Ependymzellen bis zur Lichtung des Zentralkanal vordringenden Fortsatze versehen. Da ich die intraependymalen Zellen nur bei den kleinsten unter den von mir untersuchten *Ammocoeten* angetroffen hatte, nahm ich die Zellen für die Anfangsstadien der Differenzierung der kleinen Nervenzellen an und dachte dabei, dass diese Zellen später ihre Verbindung mit dem Ependym aufgeben und ihr Zentralfortsatz sich in einen gewöhnlichen Dendriten umwandle.

Während ich früher (53) die intraependymalen Zellen im Rückenmark nur bei ganz kleinen Larven fand, hatte ich sie im Übergangsgebiet des Rückenmarks in die *Medulla oblongata* auch bei grossen, 15–18 cm langen *Ammocoeten* mit Methylenblau gefärbt und auf der Fig. 25, Taf. XXXI (54), abgebildet. „Wahrscheinlich“, schrieb ich bei dieser Gelegenheit, „stellen derartige Zellen auch hier nur Entwicklungsstadien typischer Nervenzellen dar.“

Bei der Untersuchung des Rückenmarks des erwachsenen Fisches konnte ich in den letzten Jahren mich überzeugen, dass die intraependymalen Zellen auch beim Neunauge, und noch besser als beim *Ammocoetes*, differenziert sind. Deswegen unternahm ich eine neue Untersuchung des Rückenmarks von *Ammocoetes* und von *Petromyzon fluviatilis*, um die Sache mit Hilfe möglichst verschiedenartiger Methoden in endgültiger Weise aufzuklären.

Die intravitale Färbung des Rückenmarks mit Hilfe von Methylenblau geschah auch diesmal genau wie früher (53). Ich brauche nur zu bemerken, dass die intraependymalen Zellen mit diesem Farbstoff nur sehr schwer und spät färbbar sind, viel schwerer, als die übrigen, unzweifelhaften Nervenzellen des Rückenmarks. Die intraependymalen Zellen werden nur in den letzten Momenten der Färbungszeit gut gefärbt, also nur 2 bis 3 Stunden nach Anfang der Färbung. Man muss den frischen Schnitt durch das Rückenmark mit einem grossen Tropfen der Farblösung völlig bedecken: dadurch werden die übrigen Nervenzellen meistens diffus und undeutlich gefärbt, die intraependymalen Zellen lassen sich jedoch desto sicherer färben. Um Querschnitte des Rückenmarks zu bekommen, muss man das (lebende) Tier in Stücke zerschneiden, dann jedes Stück mit dem Rasiermesser nach der Längsachse der Chorda frontal zerspalten und nur die dorsale Hälfte aus freier Hand schneiden.

Wegen der angeführten Besonderheit der Färbung der intraependymalen Zellen konnte ich sie früher bei grossen *Ammocoeten* im Rückenmark nicht finden, da für die Färbung der übrigen Elemente nur eine kleine Menge des Farbstoffes notwendig war und die Färbung nicht eine so lange Zeit dauerte. Jetzt aber, nach der von mir beim Neunauge gewonnenen Erfahrung, finde ich die betreffenden Zellen bei *Ammocoeten* jeder Grösse bzw. jeden Alters ebenso konstant, wie beim erwachsenen Tier (Fig. 2 und 3, Taf. V).

In allerletzter Zeit gelang es mir durch eine kleine Veränderung des Silberverfahrens von Ramón y Cajal die intraependymalen Zellen ausgezeichnet auch durch Silberimprägnation zu färben, und zwar noch besser als durch Methylenblau. Ich liess kleine Stückchen des Rückenmarks samt seinen Hüllen, den umgebenden Muskeln und dem entsprechenden Chordastück in einem Gemisch von Alkohol und Ammoniak (5 Tropfen auf 100 Alkohol) 48 Stunden liegen, dann behandelte ich die Objekte mit 2½% Silbernitratlösung bei einer Temperatur von 36° 5–6 Tage lang.

Besonders günstig erwies sich in einer ganz unerwarteten Weise die Behandlung nach Golgi (1908) zur Färbung der Binnennetze. Ich versuchte sie auch zur Färbung des Binnennetzes in den Nervenzellen des Rückenmarks bei den Neunaugen anzuwenden. Zu meiner Überraschung erhielt ich jedesmal, wenn ich die Stücke nicht zu lange in der Silberlösung liegen gelassen hatte, anstatt des Binnennetzes eine ausgezeichnete Färbung der Neurofibrillen in allen Nervenzellen des Rückenmarks; die Färbung war an Schärfe und Schönheit der Bilder, im Vergleich mit der Färbung nach R. y Cajal und Bielschowsky, ganz prachtvoll. In den Spinalganglienzellen färbte sich auf denselben Präparaten das Binnennetz mitunter nicht minder gut wie die Neurofibrillen in den Nervenzellen des Rückenmarks.

Auf diesen Golgi-Präparaten waren die Neurofibrillen in den intrapendymalen bipolaren Zellen ebenfalls so gut gefärbt, dass ich mich in der folgenden Beschreibung hauptsächlich auf solche Golgi-Präparate stützen werde.

Selbstverständlich ist, dass andere Methoden hier auch ihre Anwendung gefunden haben.

Das Sinnesorgan des Rückenmarks.

Auf gut fixierten Präparaten sieht man bei jeder nicht spezifischen Färbung, die nur deutliche Zellgrenzen liefert, dass das Ependym des Rückenmarks beim Neunauge ein ganz anderes Bild liefert, als man es nach den schematischen Beschreibungen der meisten Lehrbücher erwarten sollte. Es fehlt erstens die scharfe äussere Grenze des Ependyms. Die Kerne in den Ependymzellen liegen nicht in einer Reihe, sondern in regellos verschiedener Entfernung von der inneren Oberfläche der Ependymschicht. Die Ependymzellen sind verschieden lang und je nach der Länge und der Färbung des Protoplasmas lassen sich zwei Arten der Ependymzellen unterscheiden.

Die Zellen der einen Art sind immer dunkel, intensiv gefärbt; diese sind auch von äusserst variabler Grösse. Andere Zellen mit einem helleren Protoplasma sind kürzer und im allgemeinen alle von derselben Länge. Ihre Kerne sind rund oder leicht oval, wie die der Zellen der ersten Art, sie sind aber viel reicher an Basichromatin. Die Zellen sind nach innen etwas verbreitert und bilden mit ihren inneren Oberflächen die scharfe und glatte Begrenzung des Zentralkanals. Sie tragen keine Cilien, eine Cuticula ist nicht sicher nachweisbar; Kittleisten sind ebenfalls nur undeutlich differenziert.

Die dunkleren Zellen sind mit einem sphärischen Kern mit deutlichem Kernkörperchen versehen. Der Kern liegt in der

äusseren Hälfte oder am äussersten Ende der Zelle, welche dadurch an diesem Ende angeschwollen erscheint und weiter peripheriewärts spitz ausläuft. In der Richtung gegen die Lichtung des Zentralkanals verschmälert sich das Ende der Zelle und tritt zwischen den Kuppen der helleren Zellen in die Lichtung hinein. Im Zentralkanal schwillt das Ende der Zelle zu einem Knopfe an, welcher in das Lumen des Kanals hervorragt. An Querschnitten des Rückenmarks erscheinen regelmässig fünf bis acht von solchen Knöpfen. Früher nahm ich diese Gebilde für die zusammengeklebten Cilien, aber nach sorgfältiger Kontrolle und der Durchmusterung vieler Präparate bin ich jetzt überzeugt, dass normal immer nur abgerundete Knöpfchen vorhanden sind; sie können aber wegen der ungeeigneten Fixation das Aussehen zusammengeklebter Cilien annehmen. Die Form und Grösse der Knöpfe gelingt es nicht immer gut zu beobachten, da die cerebrospinale Flüssigkeit meistens einen körnigen Niederschlag bildet, welcher die Knöpfe fast ganz maskieren kann.

Die Kerne dieser Zellen sind sehr empfindlich gegen einige Fixationsflüssigkeiten, nach deren Wirkung sie immer zusammengeschrumpft erscheinen. In dieser Beziehung unterscheiden sie sich von den Kernen der hellen Zellen, welche auf solchen Präparaten ihre normale Form gut beibehalten. Nach dem Silberverfahren von R. y Cajal wird das Kernkörperchen in den dunklen Zellen sehr intensiv schwarz gefärbt, was von argentophilen Granula (R. y Cajal) herrührt.

Da ich zur Fixierung meistens dünne Scheiben, welche mit dem Rasiermesser aus dem frisch getöteten Tier geschnitten waren, anwendete, fehlte immer in solchen Scheiben der Reissnersche Faden. Er ist aber stets vorhanden, wenn zur Fixierung grössere Stücke verwendet werden. Es ist also sicher, dass der Reissnersche Faden beim Schneiden mit dem Rasiermesser aus den dünnen Scheiben ausgepresst oder ausgezogen wird.

Die dunklen und hellen Zellen sind nicht gleichmässig angeordnet. An den Querschnitten sind dorsal und ventral in den Stellen, welche dem dorsalen und ventralen Ependymkeil entsprechen, meistens nur helle Zellen vorhanden. Sie unterscheiden sich hier deutlich von den dunklen Zellen, dank ihrem schmalen, verhältnismässig chromatinarmen Kern. Die Kerne liegen auch in diesen Zellgruppen, welche manchmal den echten Ependymkeil

bilden, in verschiedener Entfernung vom Zentralkanal. Die dunklen Zellen liegen lateral an den Seiten des Kanals dicht nebeneinander, so dass auf 10 μ dicken Schnitten die zwischen diesen Zellen liegenden hellen Zellen schwer zu unterscheiden sind. Auf dünneren Querschnitten werden die dunklen Zellen durch höchstens drei helle Zellen voneinander abgetrennt. Wenn mit Hilfe irgend eines Färbungsverfahrens die peripheren Fortsätze der Ependymzellen gefärbt werden, dann kann man solche Fortsätze nur bei den hellen Zellen feststellen. Der intensiv sich färbende Faden, welcher im peripheren Fortsatze eingeschlossen wird, endigt aber nicht am äusseren Ende der Zelle, sondern setzt sich durch die ganze Zelle bis zur inneren Oberfläche fort und endigt hier innerhalb der Zelle. In dieser Beziehung scheint es zulässig zu sein, dieses Verhalten des Fadens mit den Verhältnissen bei anderen Tieren zu vergleichen.

Nach den Angaben von Studnička (50) ist bei den Fischen (*Anarrhichas lupus*, *Orthogoriscus mola* und *Lophius piscatorius*) ein ähnlicher Verlauf des Fadens des peripheren Fortsatzes vorhanden und bei *Lophius* gerade im Rückenmark. Die Ependymfasern verlaufen hier durch den peripheren Fortsatz der Zelle in den eigentlichen Zellkörper hinein und lassen sich in demselben ganz bequem bis zur fraglichen Cuticula, an die sie sich, wie es scheint, ansetzen, verfolgen. Im Innern der Zelle stellen sie eine gerade Linie dar. Nun sagt Studnička: „Man kann hier endlich auch darauf aufmerksam machen, dass auch in den weichen Körpern der Ependymzellen der Gehirnvatrikel von *Petromyzon* einzelne längs verlaufende Fasern zu sehen sind. Auch bei *Amphioxus* konnte E. Müller sehen, dass die Ependymfasern an der Seite der Zelle bis zum Zentralkanal verlaufen.“

Bei *Petromyzon* sind keine solchen Fasern vorhanden, soviel ich sehen konnte, obgleich auch im Protoplasma der betreffenden Zellen mit Hilfe der Eisenhämatoxylinmethode einige Fibrillen zu differenzieren waren. Diese Fibrillen sind aber nicht geradlinig und in keiner Weise so scharf wie in den hellen Zellen begrenzt.

Wenn man nach Beobachtung der nicht spezifisch, aber gut gefärbten Schnitte Methylenblaupräparate (nach der vitalen Färbung) betrachtet, dann kann man sich sofort überzeugen, dass die dunklen Zellen nach ihrer Lage, ihrer Form und anderen Verhältnissen vollkommen den mit Methylenblau gefärbten (Fig. 2 und

3, Taf. V) bipolaren intraependymalen Zellen entsprechen. Auf Methylenblaupräparaten sind alle oben angeführten Merkmale der dunklen Zellen vorhanden, der Endknopf, der Kern, das innere verjüngte Ende und die periphere Verdickung des äusseren Endes — alles ist vorhanden, und ausserdem sieht man auf den Methylenblaupräparaten noch mehr: vom peripheren zugespitzten Ende der Zelle entspringt der Fortsatz, welcher in die graue Substanz (wenn von einer solchen im Rückenmark von *Petromyzon* zu sprechen ist) eintritt, variköse Endästchen abgibt und sich im Geflecht der Ästchen anderer Nervenzellen des Rückenmarks verliert. Soviel ich sehen konnte, verlaufen die Verästelungen der bipolaren Ependymzellen nicht zu weit vom Zentralkanal, sie erreichen aber meistens das Gebiet der grossen effektorischen Nervenzellen des Rückenmarks.

Es ist sicher, dass solche intraependymalen Zellen Nervenzellen sind. Sie sind nicht nur bei *Ammocoetes*, sondern auch bei *Petromyzon* vorhanden, und es liegt kein Grund vor, diese Zellen für noch nicht differenzierte Zellen resp. noch nicht differenzierte Nervenzellen zu halten. Es ist jedenfalls sicher, dass neben dem Ependym kleine uni- und bipolare Nervenzellen liegen; sie sind aber, nach meiner Meinung, schon gut differenzierte Zellen aus der Gruppe der amakrinen Zellen des Rückenmarks (siehe meine Arbeit 53). Die bipolaren intraependymalen Zellen muss man, nach meiner Meinung, als solche betrachten, die ganz eigenartig differenziert sind und ihre eigene Aufgabe haben.

Studnička (50) huldigte in seiner Arbeit über das Ependym der Ansicht, dass die Ependymzellen auch im differenzierten Nervensystem noch Neuroglia und Nervenzellen produzieren könnten. Was die Übergangsformen der Ependymzellen zu Neurogliazellen betrifft, so will ich in keiner Weise die Ausführungen Studničkas bestreiten. Seine Angaben zugunsten der Entwicklung der Nervenzellen aus den Ependymzellen betrachte ich aber ebenso misstrauisch, wie die ähnlichen Angaben von Kolmer (32), von welchen schon oben die Rede war. Ich betone jedoch ganz ausdrücklich, dass ich die bipolaren intraependymalen Zellen schon von Haus aus für in besonderer Weise differenzierte Zellen halte, welche eine selbständige Rolle im Rückenmark spielen.

Vor wenigen Jahren würde es ganz ketzerisch geklungen haben, wenn man sagte, dass die intraependymalen Zellen des

Rückenmarks von Petromyzon rezeptorische Sinneszellen darstellten. Gerade in letzter Zeit sammelte man jedoch Beobachtungen, welche unzweideutig beweisen, dass im Ependym der Gehirnhöhlen wirklich Zellen vorkommen, die den peripherischen Sinneszellen homolog sind. So schreibt in dieser Beziehung Studnička in einer neuen Arbeit (51) über die Tatsache, dass schon die Hesseschen und die Josephschen photorezeptorischen Zellen im Rückenmark von Ammocoetes ganz deutlich beweisen können, dass Sinnesorgane im Innern der Cerebrospinalröhre vorhanden sind: „Bei den Elementen der Cerebrospinalröhre muss man doch dieselbe Grundeigenschaft des Protoplasmas voraussetzen, wie man sie beim aussen bleibenden Teile des Ektoderms anerkennt, infolge welcher Eigenschaft sich einzelne Zellen desselben in Sinneszellen und ganze Gruppen derselben in Sinnesorgane umwandeln können. Vor allem ist es im Gebiete der Cerebrospinalröhre das Ependym, dessen innerste auch in vielen anderen Rücksichten dem äusseren Ektoderm sehr ähnliche Schicht, welche hier in Betracht kommt. Im Ependym und durch Umbildung seiner Elemente entstehen die Sinneszellen der Parietalorgane, jene des Infundibularorgans, ihnen entspricht ihrer Lage nach die lichtempfindende Schicht der Seitenaugen. Jedenfalls entstehen auch die Hesseschen Photorezeptoren im Ependym, und diejenigen, die Joseph von Amphioxus beschrieben hat, sind ihm wenigstens nicht ganz fremd. Auch die bisher nicht genau bekannten Sinneszellen des Reissnerschen Apparates der Vertebraten wird man unter den Ependymzellen suchen müssen.“

Dank dem freundlichen Entgegenkommen Studničkas konnte ich auch sein Referat über diese Ependym-Sinnes-Organen (52) einsehen; die von ihm gegebene Zusammenstellung der Literatur liefert deutliche Beweise, dass die oben zitierte Voraussetzung durchaus berechtigt ist. Leider sind diese Angaben nicht vollständig; so bleiben Gemelli (15), Johnston (bei Petromyzon) (24) und Tretjakoff (54) über die infundibulären Zellen in diesem Referat unberücksichtigt. Diese Angaben sind aber vollständiger und beweiskräftiger, als diejenigen von Boeck (4), welche allein im Referat Erwähnung gefunden hatten.

Ich möchte deswegen die Zusammenstellung von Studnička vervollständigen und zu der Beschreibung, welche ich über die infundibulären Zellen beim Ammocoetes im Jahre 1909

(54) lieferte, jetzt die Schilderung von ähnlichen Zellen bei *Petromyzon* hinzufügen.

Das infundibuläre Sinnesorgan.

Soviel ich mich überzeugen konnte, sind Zellen von der Art der infundibulären Zellen bei *Ammocoetes* und bei *Petromyzon* nicht nur im hypothalamischen Gebiet, sondern auch im Recessus praeopticus vorhanden. Diese Zellen sind bei *Ammocoetes*, nach meinen früheren Beobachtungen (54), nicht intra-, sondern hauptsächlich extraependymal gelegen und nur ihre zentralen Fortsätze sind intraependymal eingeschlossen. Der Zellkörper liegt also ausserhalb des Ependyms und durch diese Körper wird eine besondere Schicht neben der Ependymschicht gebildet, welche von dem Ependym durch eine schmale molekulare, fein punktierte Schicht abgetrennt wird. Die Zellen sind bipolar. Der zentrale Fortsatz dringt zwischen den Ependymzellen hindurch und setzt sich bis an das Lumen der Gehirnhöhle fort. Er tritt sogar zwischen den inneren Enden der Ependymzellen in das Lumen hinein und endigt in demselben mit einer knopfförmigen Verdickung, Endknopf. Einige Zellen liegen weiter vom Ependym ab, sie senden aber in dasselbe einen sehr feinen zentralen Fortsatz hinein. Es ist nicht zu zweifeln, dass dieser Fortsatz dem zentralen Fortsatz entspricht, welcher bei den von mir oben beschriebenen intraependymalen bipolaren Zellen des Rückenmarks in dem Zentralkanal ebenfalls mit einem Endknopf endigt. Die lateralen Fortsätze der infundibulären Zellen nehmen gleich am Zellkörper den Charakter der Endfäden an und verflechten sich mit den Bahnen, welche aus dem Hypothalamus hinzukommen.

Ich brauche hier nur auf die wertvolle Abhandlung von Johnston (23) über das Gehirn von *Acipenser* zu verweisen. Der Verfasser fand nämlich im hypothalamischen Gebiet die Nervenzellen von ganz demselben Aussehen, wie sie später von ihm und von mir in demselben Gebiet bei *Ammocoetes* und bei *Petromyzon* beobachtet wurden. In den *Lobi inferiores* bei *Acipenser* sah Johnston die fraglichen Zellen in der ganzen Ausdehnung dieses Gebietes von derselben Gestalt. „The cell bodies are ovoid, fusiform, pear-shaped or nearly cubical. A single large dendrite arises from the periferal end or apex of the cell and divides into several branches which diverge as they approach

the ectal surface.“ „The neurite usually arises from the base of the large dendrite or from the basal part of one of its branches, occasionally from the cell body.“ Über die zentralen Fortsätze der Zellen verliert der Verfasser hier kein Wort: man sieht solche Fortsätze an den beigegegebenen Mikrophotographien auch nicht. Im Corpus mamillare bildet er ähnliche Zellen ab und beschreibt bei ihnen auch einen zentralen Fortsatz mit dem Endknopf. Über die Bedeutung dieser Zellen wird nicht diskutiert, wohl aber über die Bedeutung der eigentümlichen Zellen im Saccus vasculosus von *Acipenser*, welche mit Borsten an ihrem inneren Ende versehen sind und, als echte Sinneszellen, den langen Neuriten in das zentrale Nervensystem entsenden. Diese Zellen färben sich (bei *Amiurus*), nach den Angaben von Johnston, auch mit Methylenblau. Der Verfasser neigt zu der Auffassung, dass diese Zellen im Saccus rezeptorische Nervelemente sind.

Die Beobachtungen von Johnston über die rezeptorischen Zellen im Saccus waren von technischer Seite noch nicht so beweiskräftig, dass sie ohne weiteres verwertet werden könnten. Und in meiner russischen Monographie über das Nervensystem von *Ammocoetes* (55) habe ich der Beschreibung von den infundibulären Zellen noch einige allgemein-theoretische Betrachtungen zugefügt, welche in meiner deutschen Publikation fehlen. Ich schrieb nämlich, dass ich über die Bedeutung des hypothalamischen, besonders aber des infundibulären Gebietes eine andere Ansicht, als die von Johnston ausgesprochene, für möglich hielt. Johnston hat nämlich auch im Infundibulum ebenso wie im Recessus praeopticus bei der Lamprete ähnliche Zellen mit dem intraependymalen zentralen Fortsatz gefunden, wie im Corpus mamillare bei *Acipenser*. Er betrachtet das infundibuläre Gebiet als eine hypertrophierte ventrale Partie des Zwischenhirns, welche in das kommissurale und assoziative Zentrum verwandelt wurde. Nach meiner Meinung entsprechen das Infundibulum und der Recessus praeopticus nach ihrem Bau und ihrer Entstehung der frontalen Naht der Medullarrohre und deswegen gehören sie eher dem dorsalen und nicht dem ventralen Gebiet des Gehirnes an. Die infundibulären Zellen, welche in beiden Gebieten vorkommen, zeigen jedenfalls eine sehr bemerkenswerte Ähnlichkeit mit den Sinneszellen des genetisch eng mit der dorsalen Naht der Cerebralaröhre verbundenen olfaktorischen Organes. Sie erinnern auch an die bipolaren Zellen

der Netzhaut der seitlichen Augen, besonders wenn wir zum Vergleich die bipolaren Zellen der Netzhaut bei *Petromyzon* berücksichtigen wollen: zu demselben Typus gehören auch die rezeptorischen Zellen im Pineal- und Parapinealauge bei den Cyclostomen, so dass überhaupt die infundibulären Zellen dieselben Elemente darstellen, welche in den Derivaten des dorsalen Gebietes der Cerebrallöhre vorkommen.

Es ist sehr wahrscheinlich, dass das Infundibulum bei *Petromyzon* ebenfalls wie die dorsale Naht phylogenetisch von der Zone entstammt, welche in der medullären Platte sich unmittelbar in das Hautepithel forsetzte. Im Verlaufe der weiteren Entwicklung des Nervensystems lieferten die Sinneszellen dieser Zone das Material zum Aufbau der Pineal- und Parapinealauge, während viele von den Sinneszellen sich in die intraependymalen Sinneszellen umwandelten und ein Teil dieser Zellen sich als die Netzhaut der seitlichen Augen differenzierte. Im Recessus praeopticus und im Infundibulum bei *Ammocoetes* bewahren die intraependymalen Zellen, obgleich ihr Körper schon ausserhalb des Ependyms gelagert ist, vollkommen den primitiven Charakter und stellen einen Apparat dar, welcher als ein Sinnesorgan des inneren Hohlraums des primitiven Vertebratengehirns angesehen werden kann.

Kappers (31) spricht sich in seiner Untersuchung über das Gehirn der Knochenganoiden in ähnlicher Weise aus; er gründet seine Ansichten auf das Vorhandensein der gut entwickelten *Tractus sacci vasculosi*. „Ich möchte“, sagt er, „die Saccusverbindungen etwas eingehender besprechen . . . Es scheint also zweifellos, dass wir, wenigstens der Hauptsache nach, vermutlich aber ganz, es mit einer sensiblen sensorischen Bahn zu tun haben.“

Boeckle (2) fand bei der Untersuchung der Infundibularregion bei *Muraena*-Embryonen Zellen, welche nicht anders zu deuten sind, als Sinneszellen. Bei anderen Fischen erhalten wir, wie an der Hand der Angaben von Gemelli (15), Johnston (23) und Anderer ersichtlich ist, die infundibulären Zellen von typischem Aussehen, wie bei *Acipenser* und Cyclostomen, die infundibulären Zellen bei den Embryonen von *Muraena* gehören aber zur Kategorie der Sinneszellen des *Saccus vasculosus*. Ich glaube aber, dass diese beiden Zellarten untereinander nahe verwandt sind, und dass die Untersuchungen über die Sinneszellen im *Saccus* eine grosse Bedeutung für das Verständnis der infundibulären Zellen haben.

Kappers äussert sich über die Bedeutung des *Saccus* in folgender Weise: „Die Frage ist, von welcher Natur ist dieses Sinnesorgan? Seine grosse Oberfläche, seine Lage inmitten der Cerebrospinal- und Subduralflüssigkeit

lassen vermuten, dass es mit der Empfindung des Druckes dieser Flüssigkeit zu tun haben kann."

Da bei Selachiern, welche keine Schwimmblase, somit auch kein Webersches Organ haben, dessen Wirkungen durch die Sinnesepithelien des Labyrinthes perzipiert werden, auch der grösste Saccus und die grössten Saccusnerven vorhanden sind, so vermutet Kappers, dass bei diesen Fischen die mächtige Entfaltung des Saccus eine kompensatorische Bildung sei. Den grössten Tractus sacci vasculosi hat er bei *Hexanchus* gefunden.

„Im Saccus hat bisher niemand die Sinneszellen gesehen“, schrieb ich in meiner russischen Monographie (55), da ich die Angaben von Johnston für nicht beweisend betrachtete. Jetzt aber, nach den Untersuchungen von Dammerman (6), muss ich diese Behauptung für unrichtig erklären.

Gleichzeitig mit der Veröffentlichung meiner russischen Arbeit über das Nervensystem von *Ammocoetes* hat K. W. Dammerman das Vorhandensein von Sinneszellen im Saccus vasculosus der Fische nachgewiesen und dadurch die Angaben von Johnston über solche Zellen im Saccus vasculosus von *Acipenser* bestätigt.

Dammerman verfolgte die Sinneszellen im Saccus bei vielen Fischen und lieferte die Beobachtungen, welche für die Auffassung der infundibulären Zellen unentbehrlich sind. Um aber die Bedeutung dieser Beobachtungen zu verstehen, muss man zunächst die morphologischen Beziehungen zwischen dem Infundibulum und dem Saccus bei *Petromyzon* feststellen.

Bela Haller (17) sagte im Jahre 1896, dass ein Saccus vasculosus den *Petromyzonten* vollständig fehlt. Johnston betrachtet als einen solchen den dünnen epithelialen Boden des Hypothalamus (24). Schilling (46) berichtet ebenfalls, dass bei *Petromyzon* der Recessus infundibuli sich nach unten und hinten in eine epitheliale Ausbuchtung fortsetzt, welche sich noch in die knorpelige Schädelkapsel hinein erstreckt und als Vorstufe des Saccus vasculosus angesehen werden darf, „obwohl der Name hier kaum am Platze ist, da die reiche Vaskularisation, welche dieses Organ bei den höheren Fischen hat, hier noch, soweit ich sehe, fehlt“. Bei *Ammocoetes* fand ich die Verhältnisse des Hypothalamus fast genau in der Form, wie sie von Schilling geschildert worden sind. Den beiden letzten Forschern folgend, bezeichnete ich die entsprechende rein epitheliale Platte am Boden des Hypothalamus als ein Saccusrudiment und habe die Endigungen der Nervenfasern zwischen den Ependymzellen der Platte nachgewiesen (53).

Wollen wir aber jetzt das Infundibulum von *Petromyzon* mit seinen Sinneszellen unter dem Lichte der Untersuchungen von Dammerman ansehen, so kann ich wohl zugeben, dass ein Organ mit den von Dammerman genau beschriebenen Krönchenzellen bei *Petromyzon* wie bei *Ammocoetes* fehlt. Mit dieser Erkenntnis ist aber die Frage über die Beziehungen zwischen dem Saccus der Fische und dem Infundibulum der Cyclostomen noch lange nicht gelöst. Dammerman (6) hat im Saccus der Fische die bemerkenswerten Zellen gefunden, welche er „Krönchenzellen“ genannt hatte. Das innere Ende dieser Zelle ist mit den gestielten Anschwellungen versehen, welche an der Kuppe der Zelle ein Krönchen zusammenstellen. Mittels der

Silberimprägung und der Neurofibrillenfärbung vermag er die von den äusseren Enden der Zellen entspringenden Nervenfasern nachzuweisen, welche im Gehirn die entsprechenden Tractus zusammensetzen. Deswegen fasst er die morphologische und physiologische Bedeutung des Saccus in folgender Weise auf: „Der Saccus vasculosus der Fische ist ein Gehirnteil, welcher sich entwickelt als Ausbuchtung der hinteren epithelialen Infundibularwand. Eine sackartige Ausstülpung schiebt sich hier nach hinten unter der Gehirnbasis gegen die Chordaspitze. Frühzeitig wandeln sich in diesem Organ die Gehirnwandzellen in eigenartige, für den Saccus vasculosus charakteristische Ganglienzellen — die Krönchenzellen — um. Die einfachen, mehr oder weniger kubischen oder platten Zellen des Epithels mit nur einigen wenigen Flimmern auf ihrer Oberfläche werden dann zu runden bauschigen Sinneszellen mit grossen Kernen.“

Die übrigen Zellen der Saccuswand werden zu Stützzellen. Die grossen Zellen strecken ihre inneren Enden als kleine runde Köpfchen ins Innere des Saccus. Ihre Härchen verdicken sich allmählich, werden anfangs keilförmig und zuletzt gestielt. Der Vermehrung der Haare ist eine Vermehrung der Basalkörperchen vorausgegangen, da jedes Körnchen mit dem entsprechenden Basalkörnchen im Zusammenhang steht. Dammerman vergleicht die Körnchen mit den Stiften der Hörzellen und findet hier eine gewisse Ähnlichkeit. Er hat nach den Körnchenzellen auch in anderen Teilen des Gehirns gesucht, aber umsonst; ausserhalb des Saccus sind sie nicht vorhanden. Weiter beweist Dammerman, dass der echte Saccus nur den Fischen eigen ist, bei den übrigen Wirbeltieren existiert nur ein auch bei den Fischen vorkommender Recessus posterior infundibuli.

Schön ausgebildet, falten- und blutreich ist das Organ, nach den Untersuchungen von Dammerman, bei den Selachiern und den meisten Seeteleostiern, am grössten bei den Tiefseefischen, weniger vollkommen bei den Flussbewohnern; bei den im seichten Wasser lebenden Fischen verschwindet es fast vollständig. Äusserst früh entsteht es ganz fertig und funktionsfähig bei vielen pelagischen Larven der Fische.

Nach der Meinung von Dammerman liegt im Saccus ein Apparat für die Messung des Blutdruckes oder vielleicht für die Analyse der chemischen Zusammensetzung des Blutes. Wenn die grossen Gefässe, die den Saccus umgeben, strotzend mit Blut gefüllt werden, treten die Epithelien der Saccuswände nahe heran und der Inhalt des Saccus setzt die Krönchen in Bewegung. In solcher Weise kann die Änderung des Blutdruckes mechanisch perzipiert werden.

Man könnte auch denken, nach der Voraussetzung von Dammerman, dass die Reizung der Krönchen durch die Änderung der osmotischen Verhältnisse des Blutes hervorgerufen werden könnte. Vermittelst des Blutes kann vielleicht der Saccus vasculosus durch die Änderungen gereizt werden, welche in den

Bluteigenschaften durch die Wirkung der Tiefe vorkommen. Mit der Tiefe nimmt ja der Wasserdruck und der Druck, unter welchem die Gaslösungen sich befinden, zu. Mit dem erhöhten Druck und der niederen Temperatur der Wassertiefe nimmt die Konzentration des Sauerstoffes zu. Auf diesem Wege mag vielleicht der *Saccus vasculosus* ein Organ sein, welches die Sauerstoffkonzentration des Wassers zu prüfen weiss, und auf diese Weise könnte der Fisch auch imstande sein, die ihm zusagende Tiefe des Wassers aufzufinden. Deswegen nennt *Dammerman* den *Saccus* ein Tiefeorgan oder „benthisches“ Organ.

Bis zu diesem Punkt möchte ich dem Verfasser zustimmen. Ich führe hier seine Erörterungen eingehend mit der Absicht an, sie auch bei der Auffassung der Rolle des *Infundibulum* bei *Petromyzon* zu verwerten. Ich möchte aber die Bemerkung zulassen, dass die technische Seite der sonst tüchtigen Untersuchung für das geschulte Auge nicht auf der entsprechenden Höhe zu stehen scheint. Und wenn der Verfasser ein benthisches Organ auch bei *Amphioxus* und bei den Tunikaten in dem von *Boeck*e (3, 4) beschriebenen *Infundibularorgan* des ersteren und in der längst bekannten Flimmergrube der letzteren sieht, so geht er sicher zu weit.

*Boeck*e (4) hat nämlich gefunden, dass das *Infundibularorgan* bei der Larve von *Amphioxus* eine unsymmetrische Lage hat und erst bei dem erwachsenen Tier die ventrale symmetrische Platte darstellt. Nach der Meinung von *Boeck*e weist dieser Entwicklungsgang auf die primäre paarige Anlage des Organs hin. Wenn wir also diese paarige Anlage in ihrem Verhalten zur Gehirnwand uns vorstellen wollen, so werden wir genau dasselbe Bild wie im *Infundibulum* von *Petromyzon* sehen. Mit dem *Saccus vasculosus* ist aber das *Infundibularorgan* von *Amphioxus* schwer zu homologisieren. Nach der Darlegung von *Dammerman* muss man die Flimmergrube bei den Tunikaten auch dem *Infundibularorgan* homolog halten; einem Untersucher (*Hunter*) ist es gelungen, die Flimmerzellen mit den von ihnen entspringenden Nervenfasern mit Methylenblau zu färben. Bei den Larven wird die Flimmergrube frühzeitig in der Form einer Ausstülpung des Gehirns angelegt und bricht erst später und sekundär in die Mundhöhle durch. Ich glaube, dass ebenso wie das Auge von *Ascidienlarven* nach *Froriep* nur einen Überrest der paar

seitlichen Augen darstellt, die unpaare Flimmergrube wie das Infundibularorgan von *Amphioxus* bei eingehender Untersuchung nur als ein Überrest der paarigen Anlage erscheinen wird. Da wir das Infundibulum als ein weiter verbreitetes Organ, als der Saccus ist, auffassen müssen, so kann das Infundibularorgan wahrscheinlich im Gegensatz zum Saccus ein Gebilde von einer noch grösseren und allgemeineren Bedeutung sein. Ich halte deswegen die Flimmergrube der Tunikaten und das Infundibularorgan von *Amphioxus* dem Saccus der Fische nicht homolog.

Wollen wir jetzt das Infundibulum von *Petromyzon* mit seinen Sinneszellen im Licht der Untersuchungen von Dammerman ansehen. Ich kann auch zugeben, dass der echte Saccus, ein benthisches Organ mit den Krönchenzellen und den zugehörenden Blutgefässen, dem *Petromyzon* und dem *Ammocoetes* fehlt. Der von Dammerman angezeigte Processus posterior infundibuli, wie überhaupt die ventrale ependymale Platte des Infundibulum, ist jedoch keine indifferente Verschlussplatte, sondern, wie ich seinerzeit (54) nachgewiesen hatte, sind zwischen den Ependymzellen hier reichliche Nervenendigungen eingeschlossen. Ich finde aber hier in den Ependymzellen keine Merkmale einer sekretorischen Tätigkeit; die meisten Ependymzellen sind hier Flimmerzellen. Im Grunde muss man diesen Nervenendigungen irgendwelche rezeptorische Funktion zuschreiben, und die von mir und anderen beschriebene Bahn, Tractus sacci vasculosi, stellt bei *Petromyzon*, wie dieselbe Bahn bei anderen Fischen mit dem typisch entwickelten Saccus, eine rezeptorische Bahn dar. Daher meine ich, dass man von einem Rudiment oder einem Homologon des Saccus in der Form der ventralen Ependymplatte des Infundibulum auch beim *Petromyzon* sprechen könne. In dieser Beziehung scheinen Johnston und Schilling das richtigere als Bela Haller getroffen zu haben.

Dammerman sagt jedenfalls, dass er beim *Petromyzon* den von Johnston entdeckten Tractus thalamo-saccularis nicht finden konnte. Ich finde auch, dass die bezüglichen Angaben von Johnston nicht richtig sind und dass die Nervenfasern des Saccusrudimentes von den Nervenzellen des Lobus mamillaris und Lobus lateralis infundibuli entspringen und von da aus in das Ependym des Saccus hineintreten (54). Um diese Fasern von den echten im Saccus selber entstehenden Tractus sacci vasculosi

zu unterscheiden, wäre es vielleicht besser, die betreffenden Fasern bei Petromyzon als Tractus infundibulo-saccularis zu benennen.

Ausser der rezeptorischen Bahn findet Dammerman bei Fischen noch eine zweite effektorische Bahn, den Tractus thalamo-saccularis (Johnston). Diese Bahn zieht unter den Mamillarlöhnlungen her und senkt sich in den Saccus ein: „Die vielen hier durcheinander ziehenden Fasern, in Schnitten nach Golgi-Cajal angefertigt, sind nahezu unentwirrbar, aber doch lässt es sich erkennen, wie einige in den Saccus entsendet werden und hier unter seinem Epithel endigen und, wie wir später noch besser sehen werden, die Blutgefässe umspinnen. Niemals sah ich eine solche Faser an einer Stelle endigen. Auch gehen sie alle unten durch den Boden der Mamillaria nach vorn und können bis in die Nähe der Decussatio optica beobachtet werden.“

Obgleich Dammerman (6) diese Bahn bei den Teleostiern und bei den Selachiern gefunden hatte, bezweifle ich aber immer noch seine Angabe, dass die Endverästelungen der Fasern dieser Bahn für die Blutgefässe bestimmt seien. Wer mit dem Golgi-Verfahren lange gearbeitet hat, der weiss, wie unsicher manchmal die Bilder sind, wenn die tief geschwärzten Fasern aneinanderliegen und wie leicht eine Kontinuität da zu sehen ist, wo sie sicher nicht existieren kann. Auch in den Bildern von Dammerman sehe ich keine Belege für die Richtigkeit seiner Auffassung; hier ist eine wechselnde, stets sich kontrollierende Methodik erforderlich, um zu beweisen, dass die sympathischen Fasern der Blutgefässe nicht mit den Fasern des Tractus thalamo-saccularis mitgefärbt werden. Ist meine Vermutung, dass hier wirklich diese Mitfärbung stattgefunden hatte, richtig, dann kann ich behaupten, dass der Tractus thalamo-saccularis bei Fischen den von mir genau verfolgten Tractus infundibulo-saccularis von Ammocoetes darstellt. Dadurch verliert die Behauptung Dammermans, dass die Blutgefässe des Saccus in einer ganz extraordinären Weise innerviert würden, ihren die Lehre von der Innervation der Blutgefässe bedrohenden Sinn. Ich glaube, dass neuere Untersuchungen des Saccus bei Fischen noch viele interessante und unvorhersehbare Sachen liefern werden, aber nur nicht solche, gut begründete Lehren umstürzende von Dammerman; nur dürfen die Methoden nicht einseitig sein! Aus allem oben

Gesagten folgt jedoch ganz sicher, dass ein Sinnesorgan des Infundibulum etwas anderes als ein Sinnesorgan des Saccus darstellen wird. Bei *Petromyzon* fehlt das Sinnesorgan des Saccus, das des Infundibulum ist aber, nach meinen Beobachtungen, gut entwickelt. Da dieses Organ bei *Petromyzon* in den seitlichen Flächen des infundibulären Raumes eingeschlossen ist, kann man von einem paarigen Organ sprechen, und in dieser Beziehung zeigt nach meiner Meinung dieses Organ eine unzweifelhafte Homologie mit dem Infundibularorgan von *Amphioxus*. Ob die Flimmergrube der Tunikaten diesem paarigen Infundibularorgan oder dem Saccus entspricht, lasse ich dahingestellt.

Nach dem Gesagten halte ich die Infundibularzellen für ganz selbständige Strukturelemente, welche den funktionellen Arten der Nervenzellen des Gehirns gleichwertig sind. Es ist dabei nicht zu vergessen, dass schon bei den Ascidienlarven ausser den äusseren die inneren Sinneszellen im Gehirn entwickelt werden und zu solchen Elementen die Sehzellen und die die Oszillationen der Otolithen perzipierenden Zellen gehören. Die Beweise des genetischen Zusammenhangs dieser und jener Zellen (also der inneren Sinneszellen bei *Petromyzon* und bei den Tunikaten) müssen die Sache künftiger Untersuchungen sein. Da die infundibuläre Gegend nach meiner Auffassung der dorsal-frontalen Naht entspricht, ist es interessant, dass Kowalewsky die Otolithenzellen der Ascidienlarven dem dorsalen Gebiet der Gehirnblase zuzählt (37).

Um diese Annäherung an die Verhältnisse bei den Tunikaten verständlicher zu machen, will ich hier meine Ansichten über die Morphologie des Nervensystems bei den Vertebraten wiederholen. Diese Ansichten wurden zum erstenmal in meiner russisch geschriebenen Monographie über das Nervensystem von *Ammocoetes* dargelegt.

Theorie der Archimedulla.

K. E. von Baer nahm als das vordere Ende des Gehirns die Hypophysis an; dieser Ansicht hatten sich viele andere Forscher angeschlossen, His und Kupffer änderten aber diese Auffassung in einer verschiedenen Weise.

Kupffer (34), dem auch Burkhardt und L. Neumayer folgten, findet das vordere Ende des Nervenrohres im Recessus neuroporicus. Die Lamina terminalis stammt, nach seiner Meinung,

von der vorderen Naht der Hirnröhre. Wenn wir die Hissche Verteilung der Wand der Nervenröhre in die longitudinalen Zonen annehmen wollen, müssen die ventralen Hisschen Zonen, nach dem Schema von Kupffer, bis zum unteren Rand der Lamina terminalis reichen, oder sich auf den Recessus neuroporicus stützen. J. Platt, Neal und Sterzi berührten ebenfalls diese Frage nach dem vorderen Ende der Gehirnröhre, ihre Schlüsse unterscheiden sich aber fast nicht von denen von Kupffer. So sagt auch Johnston in seiner Arbeit: „The Central nervous system of vertebrates (28)“: „anterior end of the brain and head fall together at the lower border of the neuropore, where the ectoderm, entoderm and brain come into contact as in selachians (Platt) and amphibians.“

Nach den Angaben von His (21) gehört der Recessus neuroporicus dem dorsalen Teil des Gehirnröhres an: also nicht dem Recessus, sondern einer von His angenommenen basilaren Achse des Gehirns kommt die grössere Bedeutung für die Bestimmung des vorderen Endes des Gehirnröhres zu. Die basilare Achse bestimmt das vordere Ende der Medullarplatte und die Grenze zwischen den ventralen und den lateralen Zonen des Nervenrohres; sie reicht an die vordere Wand des Recessus opticus gerade vor dem Chiasma opticum.

Im Grunde genommen und ungeachtet der verschiedenen Ansichten über die Bedeutung der Kupfferschen zentralen Achse und der Hisschen Basilarachse, zeigen beide berühmten Morphologen die vordere Grenze des ventralen Gebietes des primitiven Nervenrohres ungefähr an derselben Stelle. Das Gebiet des Infundibulum, des Recessus opticus und des Chiasma gehören, nach ihren Angaben, zu den ursprünglich ventralen Gebilden. Sie machen damit jedenfalls einen Schritt weiter, um das von Baer gegebene Schema der drei primitiven Gehirnbläschen zu modifizieren und das Telencephalon der Baseler Nomenklatur nicht für eine terminale, sondern für eine dorsale Bildung, für eine Wucherung der dorsalen Zone des Nervenrohres anzuerkennen.

Soweit ich mir vorstellen kann, hat die Frage über das vordere Ende keine bloss formale, sondern reelle Bedeutung für die Morphologie des Gehirns in dem Falle, wenn wir im differenzierten Vertebratengehirn nach einer Marke für das vordere Ende der in dieses Gehirn eingeschlossenen Medullarplatte suchen, welche nach

den geläufigen Anschauungen dem primitiven zentralen Nervensystem der Provertebraten entspricht. Aber die medulläre Platte gibt den Ursprung nicht nur dem Gehirn, sondern auch dem Rückenmark, aus diesem Grunde muss man bei der Diskussion über das vordere Ende des Gehirns auch die Beziehungen zwischen Gehirn und Rückenmark berücksichtigen. Ich möchte hier die Aufmerksamkeit auf die Tatsache lenken, dass die Homologie des Gehirns und des Rückenmarks zu den am wenigsten bearbeiteten Fragen gehört. Und die Mehrzahl der Forscher berücksichtigte meistens lieber die Verschiedenheiten als die Übereinstimmungen im Bau des Gehirns und des Rückenmarks. Es konnte nicht anders sein, da man nur die äussere, und nicht die innere Morphologie des Gehirns studiert hatte. Erst die Entdeckungen der rudimentären Nerven des Vorder- und Mittelhirns gaben die Veranlassung zu einer eingehenden Vergleichung des Rückenmarks und des Gehirns.

Das klar bewusste Bestreben zu einer solchen Vergleichung treffen wir schon bei Gegenbaur (16), aber er kam zu keinem bestimmten Schlusse, indem er sagt: „Bei exklusiv ontogenetischer Behandlung dieser Frage muss man annehmen, dass das Rückenmark phyletisch einer successiven Sprossung aus dem Urhirn entsprang. Dann schwände für das zentrale Nervensystem die sonst so tief begründete Verknüpfung mit den Tunikaten und es wäre schwer zu verstehen, wie in der Struktur von Gehirn und Rückenmark eine Art von prinzipieller Verschiedenheit (Verteilung von grauer und weisser Substanz) zur Ausprägung gelang.“ (Handbuch, Bd. I, 1878, Seite 729.)

Den ersten bedeutenden Schritt in dieser Richtung hat Johnston (27) getan. Die hauptsächlich von ihm durchdachte Theorie der funktionellen Zonen des Nervensystems vermutet das Vorhandensein gleicher struktureller Elemente im Gehirn und im Rückenmark. Johnston aber fühlte sich in erster Zeit etwas unbefriedigt mit dem von ihm vorgeschlagenen System dieser strukturellen Elemente und konnte eigentlich kaum die Struktur des Rückenmarks im Gehirn wiederfinden. Nur im Hinterhirn findet er die von ihm angenommenen funktionellen Zonen, vorn vom Nachhirn gibt es schon keine motorische und sensorisch-viscerale Zone. Die Müllerschen Zellen betrachtet er als einen somatisch-effektorischen Apparat und meint, dass die Wirkung dieses

Apparates durch die Dendriten sich im Zwischenhirn geltend mache.

Modifizierte Reste der somatisch-rezeptorischen Zone findet der Verfasser im Tectum opticum und im Bulbus olfactorius; Commissura ansulata und ihre Fortsetzung — Commissura post-optica — sind, nach seiner Meinung, der ventralen Kommissur des Rückenmarks homolog. Die dorsalen Kommissuren sind im Gehirn Gebilde *sui generis*, da das Vorderhirn wahrscheinlich eine Ausstülpung der Anlage ist, welche sich früher entwickelte, als das übrige Nervenrohr seinen typischen Bau angenommen hatte.

In späteren Arbeiten hat Johnston (29) seine Ansichten etwas verändert. Die Entdeckung des Vorhandenseins des Nervus terminalis bei den Vertebraten (29) hat ihm dazu verholfen, seine funktionellen Zonen auch im Vorderhirn zu finden. Das Zentrum des Nervus terminalis ist ein somatisch-sensorisches Zentrum, während das Zentrum des Olfactorius einen visceral-sensorischen Charakter hat. Dadurch wird das Telencephalon zu einem kompletten Hirnsegment im Sinne von His, nur ist der basale Teil dieses Segmentes wegen des Fortfalles motorischer Kerne und anderer Strukturen in seinem Umfang reduziert. Bei der Rückbildung des Nervus terminalis entwickelt sich das somatisch-rezeptorische Zentrum zur Neocortex.

Bei dieser Deutung des Telencephalon bleibt, nach meiner Meinung, hypothetisch und unbegründet die Behauptung, dass beim telencephalischen Segment die motorischen Zonen in irgend einer Zeit vorhanden waren und dass das olfaktorische Zentrum ein visceral-sensorisches darstellt. Die rezeptorischen Zellen des Olfactorius sind den somatisch-rezeptorischen Zellen der Haut der Wirbellosen so ähnlich, dass sie für eine visceral-sensorische Komponente zu halten kein Grund vorliegt. In dieser Beziehung möchte ich auf die Worte von Burckhardt (5) verweisen: „Die Übertragung metamer-theoretischer Spekulation durch die Nervenwurzeln auf das Gehirn erweist sich schon angesichts des wirklichen Baues des Trigemino-facialis-Komplexes am Erwachsenen und angesichts des transitorischen Charakters der Neuromerie als fruchtlos“

Wenn dieses scharfe Urteil aus der Erkenntnis der Unmöglichkeit, die periphere Verteilung der Nerven in eine Harmonie mit der inneren Struktur des Gehirnröhres zu bringen, entstanden

ist, so konnte ich zeigen (54), dass auch die feinere Struktur des Gehirns keinen Anlass zu metamer-theoretischen Spekulationen geben kann. Aber Johnston veröffentlicht, ohne seine Angaben durch verbesserte und vielseitigere Untersuchungsverfahren zu bekräftigen, eine Polemik (27) gegen meine Angaben. Das ist der leichteste Weg eines Widerlegungsversuchs!

In seiner Deutung des Telencephalon als eines Hirnsegmentes lässt Johnston eine grössere Rolle dem Gebilde, welches in der Morphologie des Gehirns seit Burckhardt und Kupffer (35) als eine sehr wichtige Grenzmarke betrachtet wird. Aber gerade in letzter Zeit (1908) kommen Angaben gegen den übertriebenen morphologischen Wert des Velum transversum. Fanny Fuchs (14) bemerkte nämlich, dass von den Reptilien ab aufwärts bis zu den Säugern kein sicheres Homologon des Velum transversum vorhanden ist. „Es wird sich daher empfehlen, diese unsichere Grenzmarke ganz aufzugeben“ (Fanny Fuchs [14], S. 599). Und speziell vom Velum bei Selachiern bemerkt F. Fuchs, dass es durchaus nicht ohne weiteres homolog mit dem ist, was bei Teleostiern mit dem gleichen Namen belegt wird. „Es wird sich empfehlen, den Namen „Velum transversum“ für die Duplikatur des dünnen Zwischenhirndaches bei Selachiern beizubehalten, da es hier eine deutliche Grenze zwischen Telencephalon und Diencephalon abgibt. Die ebenso genannte Duplikatur bei den Teleostiern darf aber dann nicht so genannt werden. Sie hat auch gar keinen Grenzwert.“

Schliesslich sagt Johnston selber in seiner grossen Sammelarbeit über die Morphologie des Zentralnervensystems: „The value of the transverse segmentation in the interpretation of the nervous system has been greatly overestimated . . . The transverse segments are completely overshadowed in importance by the longitudinal divisions . . .“ (27, S. 21). Sein verdienstvoller Landsmann, Herrick (19), äussert sich in ähnlicher Weise, jedoch greift Johnston jetzt bei der Beurteilung der Morphologie des Telencephalon zu den metamer-theoretischen Spekulationen zurück.

Dadurch wird aber die Frage über das vordere Ende der primitiven Medullarplatte um kein Haar weiter gegenüber den Erörterungen von His und Kupffer geführt, wenigstens tatsächlich wird damit nichts Neues gegeben. Jetzt aber sind von

anderer Seite Tatsachen bekannt geworden, welche uns die Möglichkeit geben, die Ansichten von His und Kupffer kritisch zu betrachten. So findet Fanny Fuchs in ihrer gründlichen Untersuchung, dass die Stelle wechselt, wo der Neuroporus liegt, und dass sie niemals an der Vorderseite des Gehirns, sondern immer an seiner Oberseite liegt (14, S. 565).

Die embryologischen Untersuchungen, welche gerade über das Gehirn von Petromyzon ausgeführt worden sind, veranlassten Koltzoff (33), die Ansicht von Baer wieder zu beleben und für das vordere Ende des primitiven Vertebratengehirns das infundibuläre Gebiet anzunehmen. Dieses Gebiet entspricht, nach seinen Beobachtungen, am besten dem vorderen Ende des Nervenrohres. Koltzoff vermochte nämlich die Abspaltung des vorderen Endes des Gehirnrohres vom Ektoderm bei Ammocoetes schrittweise zu verfolgen und die Beziehungen des Infundibulum zum präoralen Darm klarzustellen. Nach ihm ist der Neuroporus kein Endpunkt des Nervenrohres, sondern muss als die Stelle betrachtet werden, wo das Nervensystem sich am spätesten vom Ektoderm ablöst. Der Recessus opticus gehört, nach seinen Angaben, zu den dorsalen Gebilden oder zum Dach des Nervenrohres und auf späteren Stadien dient die Spitze des Trichters als Grenzmarke zwischen dem Boden und dem Dach des Nervenrohres. Der Boden liegt dabei der Chorda, das Dach dem Ektoderm an.

Kürzlich widmete Hatschek (18) der betreffenden Frage eine spezielle Untersuchung, in welcher er die Verwandlungen des vorderen Endes des Nervenrohres im Zusammenhange mit der Entwicklung des vorderen Kopfabschnittes betrachtet. Das Objekt ist wieder Petromyzon. Nach der Auffassung Hatscheks, wird das ursprüngliche Vorderende des Vertebratenkopfes durch sekundär vorgeschobene Auswucherungen überragt, zu denen das Gehirn, die Augen und die Geruchsgrube mit angrenzendem Ektoderm gehören. Das primäre Vorderende des Wirbeltierkopfes liegt nicht in der Schnauze, sondern hinten an der Schädelbasis; es wird durch die Hypophysenecke des Ektoderms gekennzeichnet. Hatschek verwirft entschieden die Auffassung von Kupffer über die Bedeutung des Neuroporus für die Frage vom vorderen Ende des Gehirnrohres und meint, dass der Neuroporus der Cranioten dem von Amphioxus gar nicht homolog sei. Das Vorderende des ursprünglichen Gehirnrohres wird durch den

primitiven Vorderwall des Medullarrohres, die „Basilarlippe“ dargestellt, an ihrer Basis lagert sich die Basilarecke als das Vorderende der primitiven Hirnbasis, oberhalb von ihr liegt der Vorderrand des terminalen Neuroporus, als das Vorderende des primitiven Hirndaches. Die Lamina terminalis gehört jedenfalls dem primitiven Hirndach an.

Auf Grund meiner histologischen Beobachtungen über das Nervensystem von *Ammocoetes* (54) halte ich die Ansichten von Koltzoff und Hatschek für gut begründet. Die Besonderheiten des feineren Baues des Gehirns zeigen, nach meiner Meinung, ganz deutlich, dass die ventrale, effektorische Zone der ursprünglichen Medullarplatte resp. des Nervenrohres nur bis zum Tuberculum posterius gelangt, welches hinter dem Infundibulum emporragt. Vor dem Infundibulum und sogar vor dem Tuberculum finden sich keine primären effektorischen Elemente mehr, dieses Gebiet ist ausschliesslich für die rezeptorischen und assoziativen Funktionen bestimmt. Über die hintere Wand des Infundibulum und über die Mamillaria kann ich noch nicht bestimmt sagen, ob hier die effektorischen Elemente niemals existierten; jedenfalls halte ich dieses Gebiet ebenfalls für ein Gebiet der frontalen Gehirnnaht, in welchem also effektorische Elemente kaum irgendwann vorhanden waren. Nach meiner Auffassung wird die Fähigkeit des Infundibulum, Aussackungen in der Form des Saccus vasculosus zu bilden, recht verständlich, da solche Ausstülpungen an die frontalen und dorsalen Chorioideal-säcke erinnern und zu den dorsalen Pineal- und Parapinealsinnesorganen sich differenzieren. Im ganzen Nervenrohr sind solche Ausstülpungen überwiegend an der Stelle der dorsalen Naht vorhanden, deswegen ist es ganz konsequent, zu denken, dass im Gehirn keine Ausnahme von diesem morphologischen Prinzip vorkomme.

Ich denke auch, dass die Auffassung der Morphologie des Infundibularorgans bei *Amphioxus*, welche Boecké in seiner Arbeit (4) lieferte, zugunsten meiner Meinung spricht. Gegen Kupffer hält Boecké das Infundibularorgan bei *Ammocoetes* nicht für ein Homologon des Tuberculum posterius, sondern für das des Saccus vasculosus. Wenn ich mir gestatte, die Ansicht von Boecké in der Weise zu modifizieren, dass ich behaupte, das Infundibularorgan von *Amphioxus* sei ein ursprünglich paariges

Organ, dem Infundibularorgan anderer Kranioten homolog, so wird die ganze Sache auch im Gehirn von *Amphioxus* in guten Zusammenklang mit den Verhältnissen der Kranioten gestellt. Dadurch scheint mir das Eintreten des N. terminalis bei *Dipnoern* in die Gehirnsubstanz am vorderen Ende des Recessus praeopticus (Pincus, 41) weniger auffallend, als man im ersten Augenblick meinen könnte. Das Chiasma opticum bewahrt auch den Zusammenhang mit den ursprünglich dorsalen Gebieten, obgleich es jetzt an der ventralen Seite des Gehirns liegt. In dieser Beziehung ist das Chiasma und überhaupt der Sehnerv eine rein dorsale Bildung und bewahrt seine ursprüngliche Topographie, indem er mit der Gegend der dorsalen resp. frontalen Naht des primitiven Gehirnrohres sich verbindet. Es gibt, nach meiner Meinung, keinen Grund, wie übrigens auch Vialleton (56) in seinem Lehrbuch hervorgehoben hat, zu einer so gewagten Hypothese zu greifen, welche von Schimkewitsch (47) neulich ausgedacht wurde. Schimkewitsch sagt, dass in derselben Weise, wie alle übrigen Gehirnnerven (ausser den Nerven der unpaaren Augen) sich nach unten verlagern, die Sehnerven noch stärker nach unten verlagert werden. Diese Verlagerung geht, nach seiner Annahme, so weit, dass der linke Sehnerv auf die rechte Seite, der rechte auf die linke Seite übertreten. Somit stelle das Chiasma eine Folge der fortgesetzten Verlagerung der Sehnerven, welche vielleicht auch mit der Verlagerung der Augen auf die Seitenfläche des Körpers sich verbindet, dar.

Diese ganz doktrinäre Hypothese (und von solchen wimmelt das Lehrbuch von Schimkewitsch) hat keine tatsächlichen Belege und gründet sich nur auf die Annahme, dass die Verlagerung der Gehirnnerven nach unten eine allgemeine Erscheinung sei. Schimkewitsch hat ganz vergessen, dass der Trochlearis nicht nach unten, sondern nach oben verlagert wird. Nun hatten meine Untersuchungen und die Arbeiten von Kappers deutlich gezeigt, dass sogar bei den starken Verlagerungen der intracerebralen Kerne die Wurzeln derselben in topographischer Beziehung äusserst konservativ sind. Wenn eine Verlagerung der Wurzeln vorkommt, so ist diese keine aktive, sondern eine passive, wegen des Wachstums der angrenzenden Gehirnteile. Dieses Wachstum ist eine allgemeine Eigenschaft des Gehirns, nicht aber die supponierte Verlagerung der Nervenwurzeln nach unten. Nach

meiner Meinung kann man die Ausbildung des Chiasma sich sehr bequem als eine Kommissurenbildung vorstellen, und solche Kommissuren in der dorsalen Naht sind die Commissura anterior und C. posterior. Streng genommen ist das Chiasma eine intrazentrale Kommissur, da die Netzhäute der lateralen Augen vorgeschobene Gehirnteile sind. Übrigens hat schon Van Wijhe (57) den ursprünglich dorsalen Charakter der Sehnerven angenommen, und Froriep (13) hat in letzter Zeit diese dorsale Provenienz des seitlichen Auges ausdrücklich betont.

Nun glaube ich, dass die Begriffe der funktionellen Strukturen des Nervenrohres bei *Ammocoetes*, welche ich in meiner Arbeit über das Gehirn dieses Tieres durchforscht hatte, mit den genetischen Betrachtungen von Koltzoff und Hatscheck ganz gut übereinstimmen. Ich finde nämlich in den Wänden des Nervenrohres folgende longitudinale funktionelle Zonen: effektorische Zone, Assoziationszone und Koordinationszone. Wenn es aber bei manchen Vertebraten eine Verteilung in somatischen und visceralen Zonen gibt, so ist diese Verteilung eine sekundäre Erscheinung und greift in den primitiven dreizonalen Plan nicht störend ein; sie ist aber im Gehirn von *Ammocoetes* nicht durchzuführen. Die Zonen gibt es jedenfalls nur im Gehirn — im Rückenmark von *Ammocoetes* sind keine Zonen, sondern nur die entsprechenden Zellentypen vorhanden; damit wird aber die Homologie der feineren Struktur des Rückenmarks und des Gehirns nicht aufgehoben.

In dieser Beziehung geben die effektorischen Zellen die sichersten Beweise und, dank ihrem Vorkommen im Hinter- und im Mittelhirn, erscheint kein Zweifel in der Homologie dieser Abteilungen mit dem Rückenmark. Ich nehme gegen Edinger an, dass die Müller'schen Zellen bei *Petromyzon* vielleicht direkt effektorisch sind. Wenn aber Edinger recht hat und diese Zellen Assoziationszellen sind, so gehören sie funktionell der motorischen Zone an, wie sich dies in der *Medulla oblongata* recht deutlich äussert. Deswegen kann man behaupten, dass die effektorische Zone bis zum Infundibulum sich fortsetzt. Alles, was nach vorn vom Tuberculum posterius und Infundibulum liegt, gehört der Assoziationszone an.

Durch die Untersuchung der infundibulären Zellen im Gehirn von *Petromyzon* finde ich die oben angeführte Auffassung des

Grundbaues des Gehirns bestätigt. Das Gebiet des Infundibulum gehört nicht nur zu keiner der genannten drei Zonen, es bildet vielmehr eine neue und selbständige Zone oder, besser zu sagen, ein zentrales Sinnesorgan. Mit den Strukturen des Rückenmarks hat das Gebiet des Infundibulum jedenfalls den allgemeinen Bestandteil — die Sinneszellen — gemein; aber das Vorhandensein solcher Zellen kann uns in keiner Weise zu der Annahme berechtigen, dass das Gebiet des Infundibulum aus einem Segment der primitiven Medullarplatte hervorgegangen sei.

Der allgemeine Bau, die Typen der Nervelemente, ihre gegenseitigen Beziehungen und teilweise ihre Mikro-Topographie im Rückenmark erhalten, nach meinen früheren Beobachtungen, bei Petromyzon gleiche Züge im Rückenmark ebenso wie im Gehirn bis in das Mittelhirn. Aus diesem Grunde bilden das Rückenmark, das Hinter- und Mittelhirn, nach meiner Meinung, einen ursprünglichen Abschnitt des Zentralnervensystems der Vertebraten, und ich habe vorgeschlagen, diesen Abschnitt eine Archimedulla zu nennen (54). Das Zwischenhirn und das Vorderhirn sind erst aus der dorsalen Zone des vorderen Endes der Archimedulla entstanden und, im Gegensatz zu derselben, können sie als das „Archencephalon“ bezeichnet werden.

Das Archencephalon von Kupffer (34) nimmt auch das Vorderhirn und das Zwischenhirn ein, dem Mittelhirn und dem Hinterhirn gibt Kupffer zum Unterschied vom Rückenmark die Bezeichnung „Deuterecephalon“. Meine Bezeichnungen haben einen etwas anderen Sinn.

Soviel ich die „Morphogenie“ von Kupffer überdenken kann, äussern sich in ihr zwei Einflüsse. Von einer Seite zieht bei der Untersuchung der Ontogenese des Nervensystems bei Vertebraten das Gehirn durch seine Umwandlungen die Aufmerksamkeit des Forschers im grösseren Grade an und liefert dadurch die Veranlassung, das Rückenmark als die einfache Ausstülpung des Gehirns zu betrachten. Daher wurde von Kupffer die Entwicklung des Rückenmarks nur in ganz allgemeinen Zügen beschrieben. Von der anderen Seite bewahrt das Baersche Schema der drei primitiven Gehirnblaschen bei Kupffer eine besondere Sympathie zum vorderen Bläschen, welches dem Gehirn von Amphioxus entsprechen soll und den Ausgangspunkt ganzer Klassifikation bildet.

Indem ich das Nervenrohr in die Archimedulla und das Archencephalon teile, habe ich die Absicht, den ungleichen Wert der drei Baerschen primären Gehirnbläschen zu betonen.

Burckhardt (5) in seinem revolutionären Eifer nennt diese Bläschen von Baer nicht anders, als „ein unheilvolles Schema“, anstatt dessen er die Hissche Wachstumsphysiologie des embryonalen Gehirns als Grundlage der Lehre vom Wachstum und von der Morphologie des Kopfes und Gehirns ansehen möchte (5, S. 253). Dadurch wirft Burckhardt auf die grossen Entdeckungen Baers einen ganz unverdienten Schatten. Gleich wie F. Fuchs (14) möchte ich einwenden, dass Baer die drei Gehirnbläschen nur als eine Tatsache, als Ergebnis der Beobachtung beschrieben hatte. In die Theorie hat diese Beobachtung sich nur in den Schriften der Nachfolger von Baer eingeschlichen. Das vordere Gehirnbläschen gehört, nach meiner Auffassung, auf Grund seiner funktionellen Elemente zum Archencephalon und stellt im Vergleich mit dem mittleren und dem hinteren Bläschen nur eine Ausstülpung des mittleren Bläschens vor. In der Phylogenie des Gehirns können wir mit Recht die drei Gehirnbläschen unberücksichtigt lassen und das Nervensystem der Vertebraten direkt mit dem zentralen Nervensystem von Amphioxus und der Ascidienlarven vergleichen. Bei diesem Vergleich sieht man sofort, dass bei diesen Tieren das vordere Bläschen im Zusammenhang mit den originellen Sinnesorganen, wie das zentrale Auge und das Otolithenorgan versehen ist, welche dem Archencephalon der Vertebraten vielleicht ganz fremd sind. Deswegen muss man vorsichtig auch bei diesem Vergleich sein und das Sinnesbläschen von Amphioxus oder der Ascidienlarven nicht ohne weiteres vollständig homolog dem Archencephalon der Vertebraten halten. Der Begriff der Archimedulla scheint mir auch in dieser Beziehung sehr bequem zu sein. Damit wird gesagt, dass im Nervenrohr von Amphioxus und von Vertebraten ein homologer Teil, die Archimedulla, existiert, welcher aber bei ersterem ebenso wie bei letzteren durch sekundäre Umwandlungen vervollständigt wird.

Die Fragen der Morphologie des Gehirns und Kopfes werden durch den geschichtlichen Gang der Untersuchungen so eng miteinander verbunden, dass die Änderungen der Ansichten in einem Gebiet unbedingt die Änderungen auch im anderen hervorrufen. Meine Teilung des Nervenrohres in die Archimedulla und das

Archencephalon entspricht der Teilung des Schädels in die chordale und die prächordale Partie (Gegenbaur, Stöhr).

Ich halte also nach dem oben Gesagten den Saccus vasculosus, das Infundibulum und den Recessus praeopticus als der dorso-frontalen Naht des primitiven Nervenrohres angehörig und den anderen, die Sinneszellen enthaltenden Organen der dorso-frontalen Naht verwandt. Zu solchen Organen gehören allererst die Parietalorgane. Studnička hat in seiner neuesten Arbeit (51) ganz richtig bemerkt, dass die Parietalorgane, welche man bei den üblichen genetischen Betrachtungen zu wenig berücksichtigt hat, in Wirklichkeit die wichtigen Beweise in diesen Fragen zu liefern imstande sind. Nach den Angaben dieses hervorragenden Kenners der Parietalorgane sind ihre primitiven Formen bei den Vertebraten vorhanden, die sich nur als eine sackförmige Ausstülpung der dorsalen Gehirnwand zeigen und in ihrem Ependym überall zwischen den typischen Ependymzellen Sinneszellen eingeschlossen haben. Es ist, nach meiner Meinung, sehr wahrscheinlich, dass die fronto-dorsale Naht eine par excellence die Sinneszellen produzierende Stelle ist. Diese Tatsache kann aber ein neues Licht in die Frage der Morphologie der parietalen Organe, speziell in der Frage nach der ursprünglichen Paarigkeit des Pineal- und Parapinealorgans werfen. Locy (38) hat die Ansicht ausgesprochen, dass die augenähnlichen Parietalorgane ursprünglich paarig waren, und viele andere Untersucher hatten die wenigstens rudimentären Reste dieser Paarigkeit sogar durch heroische Mittel aufzufinden gesucht. So untersuchte Hill (20) 600 Hühnchenembryonen, um nur bei zweien von diesen Embryonen die Paarigkeit der Anlage der Epiphyse zu entdecken.

Es ist aber, nach meiner Meinung, noch lange nicht bewiesen, dass die so selten vorkommende Paarigkeit der Anlage und andere vermeintliche Zeichen derselben einen Atavismus und keine Mutation darstellen. Nach meiner Auffassung brauchen diese Organe, als Ausstülpungen der fronto-dorsalen Naht, nicht unbedingt paarig zu entstehen, und wenn die Paarigkeit wie im Infundibularorgan oder in den Mamillarkörpern vorhanden ist, so spricht diese Paarigkeit in keiner Weise für die Homologie der Parietalorgane mit den seitlichen Augen. Näheres über die diesbezüglichen Tatsachen hoffe ich in nächster Zeit zu liefern.

Die infundibulären Zellen.

Um den Vergleich der von mir beobachteten infundibulären Zellen von *Petromyzon* mit denen der anderen Tiere durchzuführen, werde ich zunächst die Angaben von Boeck (4) über die Zellen des Infundibularorgans von *Amphioxus* eingehender besprechen. Die Zellen des Infundibularorgans zeichnen sich beim *Amphioxus* schon dadurch aus, dass ihre langen Cilien nach hinten gerichtet sind, im Gegensatz zu den übrigen Zellen des Ependyms der Gehirnblase, welche nach vorn gerichtete Cilien haben. Bei erwachsenen Tieren ebenso wie bei Larven kann man nur eine Art von Zellen sehen: alle diese Zellen sind mit kleinen, kugelförmigen Kernen versehen und zylinderförmig. Im hellen, feinkörnigen Protoplasma dieser Zellen ist eine dicke, gerade in der Längsachse verlaufende Neurofibrille sichtbar, welche von der Oberfläche des zentralen Endes der Zelle bis nahe an den Kern verfolgt werden konnte. Bei ausgewachsenen Tieren konnte bemerkt werden, dass vom oberen knopfförmigen Ende der Neurofibrille zwei äusserst dünne Fädchen abgehen, von welchen jedes in eine Cilie übergeht. Jede Zelle hat zwei Cilien. Den Verlauf der Neurofibrille, nachdem sie den Zellkörper verlassen hatte, konnte Boeck nicht weiter verfolgen.

Die Angaben von Johnston habe ich schon früher angeführt. Sie beruhen nur auf Golgipräparaten und enthalten keine Hinweise über das Verhalten der Neurofibrillen. Die infundibulären Zellen im Gehirn von *Petromyzon* unterscheiden sich, nach meinen Beobachtungen, von denselben bei *Ammocoetes* (54) ausser durch die Grösse noch durch einige andere Merkmale. Ihre Körper bleiben bei *Petromyzon* meistens ganz ausserhalb der Ependymschicht, so dass nur der zentrale Fortsatz der Sinneszelle zwischen den Ependymzellen bis in die Lichtung des infundibulären Hohlraums verläuft. Dieser Fortsatz endigt im infundibulären Hohlraum zwischen den Cilien der typischen Ependymzellen mit einem viel deutlicheren Endknopf als bei *Ammocoetes*, welcher dazu noch sehr mannigfaltig gestaltet ist. Die Cilien sind am Knopf im eigentlichen Sinne des Wortes nicht vorhanden.

Der peripherische Fortsatz nimmt schon neben dem Zellkörper (Taf. V, Fig. 1) die Gestalt eines feinen Fäserchens an und teilt sich sogleich in die Endäste oder nimmt selber das Aussehen eines Endästchens an, wird varikös und verläuft als

solches eine lange Strecke. Dadurch unterscheiden sich diese Sinneszellen z. B. von den olfaktorischen Sinneszellen, bei welchen immer ein peripherischer Fortsatz des Zelleibes deutlich vom eigentlichen Nervenfortsatz abgegrenzt wird.

Die Schicht der infundibulären Sinneszellen wird von der Schicht der Ependymzellen durch eine feinfaserige Lamelle abgetrennt. Aus einem Grunde, welchen ich gleich zeigen werde, nenne ich diese Lamelle das innere Geflecht (Fig. 5, Taf. V), da nach aussen von der Schicht der Sinneszellen eine äussere feinfaserige Lage, das äussere Geflecht, vorhanden ist.

Es lassen sich wohl Zellen verschiedener Gestalt beobachten. Ich möchte jedoch nicht sagen, dass dadurch sich verschiedene Zelltypen äussern, da vorläufig diesen Gestalten der Zellen keine funktionelle Bedeutung zuzuschreiben möglich ist, ich will aber diese Formen beschreiben, um ein vollständiges morphologisches Bild der Infundibularzellen vom *Petromyzon* zu liefern.

Am häufigsten treffe ich die einfachen bipolaren Zellen mit verschiedenartig gestalteten Zellkörper (Fig. 4, Taf. V) und mit kleinem Endknopf. Die zentralen Fortsätze dieser Zellen brauchen nicht immer ganz senkrecht zur Ependymoberfläche zu ziehen, sondern können auch schief zu derselben stehen. Meistenteils sind die zentralen Fortsätze glatt, in anderen Fällen sieht man auf ihnen Varikositäten und spindelförmige Verdickungen (Fig. 6a, Taf. V).

Neben den bipolaren Zellen sind auch die multipolaren recht häufig. Die Vermehrung der Zahl der Fortsätze betrifft aber nicht den zentralen Fortsatz, sondern äussert sich ausschliesslich nur in den peripheren Fortsätzen. Diese Vermehrung der Fortsätze steigt sogar bis zu drei Fortsätzen auf (Fig. 8, Taf. V), was durch die gleichzeitige Teilung der peripheren Fortsätze die Gestalt der Zellen sehr dem allgemeinen Typus der kleinen Zellen der Gehirnwand von *Petromyzon* nähert.

Weitere Variationen werden dadurch hervorgerufen, dass die Ansatzpunkte der beiden Fortsätze am Zellkörper näher aneinanderrücken, so dass der Zellkörper als eine seitliche Hervorragung (Fig. 4b, Taf. V) an der Nervenfaser zu liegen scheint. Manchmal geht die Veränderung noch weiter, in demselben Sinn, wie die Umwandlung der ursprünglich bipolaren Spinalganglienzellen zu den pseudounipolaren Zellen sich vollzieht. Daher treten

auch unter den infundibulären Zellen pseudounipolare Zellen auf (Fig. 6 b, Taf. V).

Die grösste Mannigfaltigkeit zeigt jedenfalls das Endstück des zentralen Fortsatzes (Fig. 5, Taf. V), welches zwischen den Ependymzellen eingeschlossen ist. Bei vielen Zellen konnte ich bemerken, dass gerade unterhalb resp. ausserhalb der Ependymschicht vom zentralen Fortsatz feine variköse Kollateralen entspringen, welche, sich teilend, in der oben erwähnten inneren Schicht der Punktsubstanz sich verbreiten. Diese Kollateralen bilden in derselben Schicht einen Plexus, weshalb ich diese Schicht (Fig. 5 Pc, Taf. V) auch als „inneres Geflecht“ bezeichnet habe.

Das eigentliche Endstück kann in vielen Fällen nicht dicker und ebenso glatt wie überhaupt der zentrale Fortsatz sein. In anderen Fällen ist er in einer verschiedenen Weise verdickt und mit einem dicken Endknopf versehen (Fig. 5, Taf. V). Die Verdickung kann in der Form einiger grossen Knötchen oder spindelförmiger und birnförmiger, sogar keulenförmiger Anschwellungen entstehen, manchmal ist die Anschwellung so mächtig, dass sie wie ein Zellkörper aussieht.

Der Endknopf kann die direkte Fortsetzung der Anschwellung des Endstücks sein (Fig. 12 und 13, Taf. V) oder er ist ganz selbständig, und das Endstück verschmälert sich vor dem Endstück bis zum äussersten Grade (Fig. 11, Taf. V).

Nach einer nicht zu intensiven Methylenblaufärbung gelingt es die Neurofibrillen in den infundibulären Zellen ganz deutlich zu unterscheiden. Diese Fibrillen bilden ein Netz, welches in den dickeren Abschnitten der Fortsätze nach aussen und zentralwärts vom Kern (Fig. 17, Taf. V) sehr dicht ist, an den Seiten des Kerns aber werden die Abschnitte des Netzes nur durch wenige Fibrillen und Fibrillenbündel miteinander verbunden. Dieses Verhalten ist ganz typisch. Im zentralen Fortsatz verschmelzen die Fibrillen zu einem Faden, welcher bis in das Endstück des Fortsatzes verläuft. Was aber das Schicksal des Fadens im Endstück und im Endknopf betrifft, so lassen sich in dieser Beziehung verschiedene Möglichkeiten beobachten.

Im einfachsten Fall entbündeln sich im Endknopf und in den Verdickungen des Endstückes (Fig. 13, Taf. V) die Neurofibrillen und bilden im Endknopf ein Endnetz.

In anderen Zellen liegt im Endknopf oder schon im Endstück eine Ansammlung von sehr intensiv tingierbaren Mikrosomen, welche das Verhalten der Neurofibrillen im Endstück ganz verdecken (Fig. 15 und 17, Taf. V). Wieder in anderen Zellen treten die Neurofibrillen aus dem Endknopf ins Freie und endigen zwischen den Cilien der Ependymzellen in der Form winziger, meist am Ende verdickter Fäserchen (Fig. 16, Taf. V). Manchmal entsteht dadurch das Bild einer Krönchenzelle, welche von Dammerman im *Saccus vasculosus* beschrieben wurden, aber die Verteilung der gestielten Körnchen erreicht bei den von mir untersuchten Zellen niemals die Regelmässigkeit der Krönchenzellen aus dem Saccus. Die längeren, aber ebenfalls feinsten Fäserchen, welche die unmittelbaren Fortsetzungen der Neurofibrillen zu sein scheinen, können auch nicht vom Endknopf, sondern schon vom Endstück unterhalb des Endknopfes entspringen (Fig. 15, Taf. V) und zwischen den Ependymzellen verlaufen. Als seltenere Zellarten erscheinen die infundibulären Zellen, bei welchen der zentrale Fortsatz das Ependym nicht erreicht, sondern in der Schicht des inneren Geflechts sich in dieses umbiegt und mit den Kollateralen der zentralen Fortsätze anderer Zellen sich verflecht. Noch andere Zellen haben keinen zentralen Fortsatz, sondern sind echt unipolar, sie liegen aber ganz dicht unter dem inneren Geflecht und manchmal sogar im Geflecht unter dem Ependym (Fig. 6c, Taf. V).

In der äusseren Schicht der Punktsubstanz sind neben dem Lager der Sinneszellen andere bi- und multipolare Zellen mit dem ebenso, wie die Sinneszellen, verhältnismässig kleinen Zellkörper verstreut. Ihre Neuriten, die sich eigentlich ebensowenig von den Dendriten unterscheiden, wie überall bei den kleinen Zellen des Nervensystems von Petromyzon, schliessen sich den Neuriten der Sinneszellen an und bilden mit ihnen zusammen die efferenten Bahnen des Infundibulum. Ich hatte auch die Infundibularzellen in den Gehirnen von anderen Vertebraten mit Methylenblau zu färben versucht und erhielt von *Emys caspica* ebenso instruktive Präparate wie von Petromyzon. Auch bei dieser Schildkröte haben die infundibulären Zellen das Aussehen typischer Sinneszellen und sind meistens bipolar, mit einem zentralen und einem peripheren Fortsatz versehen. Der zentrale Fortsatz erscheint aber nicht so plötzlich verdünnt wie bei Petromyzon,

sondern verschmälert sich meistens nur allmählich, und das Endstück unterscheidet sich sehr scharf durch seinen Farbenton. Der periphere Fortsatz verhält sich ähnlich wie bei *Petromyzon*. Leider hatte ich bisher, aus Mangel an Material, das Verhalten der Sinneszellen zu den typischen Ependymzellen nicht verfolgt. Der Endknopf ist an den infundibulären Zellen der Schildkröte nicht vorhanden.

Es häufen sich also die Angaben über die zentralen Sinneszellen, welche die zentralen Sinnesorgane zusammenstellen, in recht bedeutendem Maße, und es ist nicht zu zweifeln, dass bei speziellen Untersuchungen über diese Zellen noch ganz ungeahnte Vorrichtungen im Nervensystem der Wirbeltiere entdeckt werden können.

Die Sinneszellen des Rückenmarks.

Die Sinneszellen des Rückenmarks von *Petromyzon* stehen sicherlich in keiner genetischen Beziehung zur dorsalen Naht des Nervenrohres. Sie scheinen aber zu bedeuten, dass der entsprechende Teil der Archimedulla sein ursprüngliches, ektodermales Gepräge besser bewahrt hatte, als der Kopfteil der Archimedulla, wo in den Gehirnhöhlen die genannten Zellen bis zum Gebiet des Infundibulum fehlen. Sie fehlen hier aber nicht ganz, sie sind vorhanden, jedoch so verändert, dass man sie nur als ein Überbleibsel des einmal höher entwickelten Apparates sich vorstellen kann. Ich meine damit die Sinneszellen im Gebiet des Calamus (Fig. 18, Taf. V). Auf Schnitten durch die Rautengrube im Gebiet des Calamus finde ich im Ependym neben der medianen Rinne zwei symmetrisch liegende Zellen, die genau so aussehen, wie die intraependymalen Zellen im Rückenmark. Es ist auch sehr leicht, die zwei Reihen dieser Zellen bei Stückfärbung des Gehirns mit Methylenblau zu beobachten, nur muss man das Objekt lange und intensiv färben. Jede Zelle der Calamusreihe hat dieselbe Grösse und sie gleichen sich auch genau in der Form. Von den Sinneszellen des Rückenmarks unterscheiden sich die Calamuszellen durch die grosse Endverbreitung, welche dem Endknopf jener entspricht. In dieser Beziehung scheinen die Calamuszellen eine Stellung zwischen den Sinneszellen des Rückenmarks und den infundibulären Zellen einzunehmen. Sehr charakteristisch ist für diese Zellen, dass ihr zentrales Endstück

häufig geknickt ist, so dass dessen Endverbreitung nach der Seite oder nach unten gerichtet wird. Soviel ich an Methylenblaupräparaten der Medulla oblongata sehen kann, setzen sich die beiden Reihen der zu beiden Seiten der Medianrinne liegenden Calamuszellen bis in die Gegend der Acusticuskerne fort. Die peripheren Fortsätze der Zellen vermochte ich nicht mit Sicherheit zu verfolgen, da sie bei der Stückfärbung nur schwer darstellbar sind. Ich möchte sogar wegen dieses Mangels die Calamuszellen noch unter Frage lassen, da ich ihre nervöse Natur nur auf Grund der ihnen eigenen mit den Sinneszellen gleichen Merkmale vermute. Falls sie wirklich nervöse resp. Sinneszellen sind, bin ich berechtigt, die ganze Archimedulla in erster Linie als eine Sinnesepithelplatte anzusehen.

Die nervöse Natur der bipolaren intraependymalen Zellen des Rückenmarks wird am deutlichsten durch das Verhalten ihrer peripheren Fortsätze gekennzeichnet. Ich wenigstens halte dieses Verhalten neben der spezifischen Färbung mit Methylenblau für genügend, um diese Zellen als nervöse Elemente anzuerkennen; die Silberimprägnation ergab mir noch weiteres. Feine Schnitte, mit dem Silberverfahren behandelt, zeigen an den intraependymalen Sinneszellen dieselbe innere Struktur wie die unzweifelhaften Nervenzellen. Solche Präparate haben den Vorteil, dass alle übrigen nervösen Elemente in gleicher Weise wie die Sinneszellen gefärbt werden, so dass man leicht Vergleiche der Nervenzellen mit den Sinneszellen anstellen kann; sie sind auch sehr bequem für das Studium der Form und Grössenverhältnisse der Sinneszellen.

Sehr instruktiv sind in dieser Beziehung Längsschnitte des Rückenmarks (Fig. 20, Taf. VI). Man sieht an diesen, dass die Sinneszellen nicht genau senkrecht zur Längsachse des Rückenmarks gestellt sind, wie es nach den Querschnitten der Fall zu sein scheint (Fig. 19, Taf. VI).

Die kürzesten Sinneszellen liegen fast vollkommen in der Schicht der typischen Ependymzellen. Sie haben birnförmige Gestalt (Fig. 19, Taf. VI), indem das zentrale Stück in der Richtung gegen den Zentralkanal sich verschmälert und in den Endknopf ohne oder nur mit leichter Anschwellung übergeht. Im Körper der Zellen ist ein dichtes Neurofibrillennetz vorhanden. Nach dem Verlauf der Neurofibrillen kann man zwei Arten von kurzen

Zellen unterscheiden. Bei der einen Art ist das Netz hauptsächlich im inneren Teile der Zelle entwickelt, im äusseren Gebiet neben dem Kern verlaufen nur spärliche Neurofibrillen. Die Maschen des Netzes sind der Querachse nach ausgezogen (Fig. 20, Taf. VI) und gelangen nicht in das Endstück und den Endknopf. Im letzteren sieht man bei diesen Zellen nur einige mehr oder minder intensiv gefärbte Mikrosomen. In der dünnen Protoplasmaschicht an den Seitenflächen des Kerns verlaufen einige Fibrillen, welche sich meistens wieder zentralwärts umbiegen und zum gemeinsamen Netz zurückkehren. Eine Neurofibrille läuft in den peripheren Fortsatz hinein.

In den Zellen der anderen Art sind die Maschen des Neurofibrillennetzes längs gerichtet, und die Endösen dringen bis in den Endknopf vor (Fig. 21, Taf. VI). Ferner findet man meistens auch an den Seitenflächen des Kerns reichliche Neurofibrillen, die schliesslich zu einer feinsten Neurofibrille des peripheren Fortsatzes verschmelzen. Manchmal zeichnen sich diese Zellen besonders durch einen grossen Reichtum an Neurofibrillen aus (Fig. 22, Taf. VI), und gerade bei dieser Fülle und Dichtigkeit des Neurofibrillennetzes sieht man oft im Endknopf keine einzige Fibrille, keine Öse. Es scheint sogar, dass die Fibrillen hier freie endigen; in anderen Fällen bemerkt man, dass im Endstück des peripheren Fortsatzes der Zelle die Endösen spitz auslaufen, so dass hier keine freien Neurofibrillen, sondern zusammengedrückte Maschen des Netzes vorhanden sind. Wieder bei anderen Zellen sind im Endknopf in Silber geschwärzte Mikrosomen zu sehen.

Wenn die Fibrillen spärlicher sind, wie es bei manchen Zellen der Fall ist, so ist die interfibrilläre Substanz gut zu erkennen (Fig. 24, Taf. VI). Sie erscheint ganz homogen, und nur im Endknopf sind die argentophilen Mikrosomen zu bemerken, oder diese fehlen, und man sieht dort nur eine Endöse. Manchmal sind die Mikrosomen dicht nebeneinander und reihenweise gelagert, so dass sie eine Endöse vortäuschen können (Fig. 23, Taf. VI).

Bei den kurzen Zellen kommen Formen vor, die sich wie Übergänge vom bipolaren zum pseudounipolaren Typus ausnehmen. Dies spricht sich in der Weise aus, dass das Kerngebiet des Körpers seitlich an der Längsachse der Zelle liegt; es scheint dann der periphere Fortsatz (Fig. 25, Taf. VI) die unmittelbare

Fortsetzung des zentralen Fortsatzes zu sein. Manchmal ist der seitlich hervorspringende Teil des Zellkörpers mit einem kurzen Fortsatz versehen (Fig. 26, Taf. VI). Diese Abweichungen von der streng bipolaren Form erinnern an die ähnlichen Abweichungen bei den infundibulären Sinneszellen.

Schon bei den kurzen Zellen kann man bemerken, dass bei einem nicht zu dichten Neurofibrillennetz eine Fibrille ausserordentlich dick ist und meistens nur diese Fibrille am längsten im zentralen Fortsatz (Fig. 25, Taf. VI) verläuft. Man kann diese dicke Fibrille als „Hauptfibrille“ bezeichnen. Nun ist diese Hauptfibrille in den längeren Sinneszellen besonders häufig zu sehen.

In den Zellen mittlerer Grösse (Fig. 27, 28, Taf. VI) sehen wir wieder das Neurofibrillennetz entweder hauptsächlich in der zentralen Partie der Zelle (Fig. 28, Taf. VI) oder im ganzen Zellkörper gleichmässig verteilt (Fig. 29, Taf. VI); im letzten Falle sind einige Fibrillen dicker als die meisten übrigen.

Die langen Sinneszellen besitzen fast ohne Ausnahme ein spärliches Neurofibrillennetz. Die Endschlingen sind hier im Endknopf auch vorhanden (Fig. 30 und 31, Taf. VI), ebenso wie die scheinbar frei endigenden Fibrillen (Fig. 32 und 33, Taf. VI). Die Fibrillen im zentralen Fortsatz der Zelle verschmelzen miteinander zu einer einzigen, welche im weiteren Verlauf sich wieder in zwei oder drei Fibrillen auflösen kann. Die Mikrosomen im Endknopf der langen Sinneszellen sind viel seltener als in den kurzen Zellen zu sehen. Was die Verteilung der Fibrillen im Zelleib betrifft, so sind auch hier Zellen mit dem Fibrillennetz im inneren Teil und Zellen mit dem Fibrillennetz um den Kern vorhanden (Fig. 30 und 32, Taf. VI).

Nach Durchmusterung von Hunderten von Sinneszellen habe ich den Eindruck, als ob die Dichtigkeit des Fibrillennetzes im Gegensatz zur Länge der Zelle stehe, und je länger die Zelle, desto spärlicher das Fibrillennetz sei.

In allen Typen der Sinneszellen nimmt der Kern den breitesten, äussersten Teil der Zelle ein, welcher sich peripheriewärts rasch verjüngt und zuspitzt, indem er in den Nervenfortsatz übergeht. Die Neurofibrillen schmiegen sich eng an die Kernmembran an, und selbst bei einem dichten Neurofibrillennetz tritt der Kern ohne jede Färbung scharf hervor. Die langen Sinneszellen sind drei- bis fünfmal so lang wie die typischen

Ependymzellen, sie liegen also mit dem grössten Teil ihres Körpers ausserhalb der Ependymschicht und sind in dieser Beziehung den infundibulären Sinneszellen sehr ähnlich.

Nach dem oben Gesagten rekapituliere ich, dass die Verteilung der Neurofibrillen besonders verschiedenartig im Gebiet des Kerns ist. Meistens sammeln sich die Neurofibrillen an den Seitenflächen des Kerns in ein, zwei oder mehrere Bündel, welche in der dünnsten Schicht des Protoplasmas zwischen der Oberfläche des Zellkörpers und der Kernmembran peripheriwärts verlaufen und im zugespitzten äussersten Abschnitt der Zelle in die Fibrille bzw. in das dünne Fibrillenbündel des Nervenfortsatzes übergehen. Und wenn im Gebiet des Kerns auch ein dichteres Fibrillennetz vorhanden ist, so liegen die Fibrillen am häufigsten doch nur an einer Seite des Kerns, so dass auch in diesem Falle ein grosser Teil der Kernmembran von den Fibrillen nicht bedeckt ist.

Nach meinen Befunden ergibt sich, dass bei *Petromyzon* Sinneszellen aller Typen sich überall im Ependym des Zentralkanals von der Medulla oblongata bis zum Schwanz finden. Sie bilden auf der ganzen Strecke eine zusammenhängende zylindrische Schicht um den Zentralkanal. Sonach setzen die Sinneszellen des Rückenmarks eine mächtige perzipierende Oberfläche zusammen und stellen wahrscheinlich ein Sinnesorgan dar, welches, nach seiner Ausdehnung und nach der strengen morphologischen Differenzierung seiner Elemente zu schliessen, sicherlich für die Funktionen des Rückenmarks bei *Petromyzon* nicht minder wichtig ist, als die effektorischen oder assoziativen Zellen desselben.

Die Nervenfortsätze der Sinneszellen verhalten sich nicht wie die Dendriten der übrigen Nervenzellen, sie laufen nicht bis zur Oberfläche des Rückenmarks und nehmen keinen Anteil an der Bildung des supramedullären Nervengeflechtes. Sie bilden überhaupt keine Geflechte, da sie sehr schwach verästelt sind, und sich zwischen den Nervenzellen des Rückenmarks verlieren. Ich bin überzeugt, dass solche Sinneszellen auch bei anderen Vertebraten im Rückenmark vorkommen. Beim *Amphioxus* fand Edinger im Ependym des Kopfabschnittes der Nervenröhre bipolare Zellen (11), welche durch Silber sich schwarz färben; der periphere Fortsatz der Zelle setzt sich in eine Faser fort, welche in die äussere Nervenfaserschicht übergeht. Es ist für

mich besonders wichtig, dass auch im Rückenmark von *Amphioxus* Eddinger ähnliche bipolare Zellen bemerkt und abgebildet hat. Zwar haben schon Retzius und Johnston (25) dieselben Zellen gefunden und sie für Ursprungszellen sensibler Wurzelfasern angenommen, jedoch halte ich diese Annahme für wenig bewiesen.

Nach den Beobachtungen von Dogiel (10) kann man denken, dass die Fasern der sensiblen Wurzeln beim *Amphioxus* eher von den peripheren epidermalen Sinneszellen und von den durch Dogiel entdeckten Spinalganglienzellen entspringen. In seiner Beschreibung sagt er, dass die peripheren Sinneszellen im Hautepithel von *Amphioxus*, wahrscheinlich auf dem ganzen Körper verstreut sind. „Ungeachtet mancher Schwierigkeiten“, sagt Dogiel, „gelang es mir doch an einigen Präparaten deutlich wahrzunehmen, dass die zentralen Fortsätze der genannten (epidermalen) Sinneszellen durch die homogene subepitheliale Schicht hindurchtreten und in Gestalt feiner varicöser Fäden sich unmittelbar den Nervenästchen zugesellen.“

Man muss also diesen Angaben zufolge anerkennen, dass aus der gesamten Haut eine grosse Anzahl von Nervenfasern ins Rückenmark von *Amphioxus* eintritt, welche gar keinen Ursprung im Rückenmark selber haben. Dadurch ist die Ansicht von Retzius, dass die Fasern der dorsalen Wurzeln von den kleinen bipolaren Zellen des Rückenmarks entstammen, kaum mehr haltbar. Dogiel hat weiter auch echte Spinalganglienzellen bei *Amphioxus* gefunden und sehr wahrscheinlich gemacht, dass die sogenannten Zellen von Quatrefages in den Ästen des ersten und zweiten Nervenpaares auch den Spinalganglienzellen homolog sind. Ich hatte Gelegenheit, die Präparate von Dogiel persönlich zu studieren und möchte sagen, dass Dogiel entschieden die Richtigkeit seiner Auffassung betonen könnte.

Nun hat Joseph (30) gut begründete Beweise geliefert, dass die von Dogiel nachgewiesenen Sinneszellen in der Haut von *Amphioxus* sehr verbreitet sind und sogar den Metapleuralfalten nicht fehlen. Ihre zarten Plasmastränge gehen bis in die Cutis, stellen also wieder Nervenfasern dar.

Ich kann hier vorläufig hinzufügen, dass ich bei *Petromyzon* auch die epidermoidalen Sinneszellen (die Zellen von Tomaselli) mit Methylenblau färben konnte und ihre Verbreitung in der

ganzen Haut nachgewiesen habe. Also auch in dieser Beziehung steht *Petromyzon* dem *Amphioxus* sehr nahe und es ist vielleicht ganz richtig, anzunehmen, dass die intraependymalen bipolaren Zellen des Rückenmarks von *Amphioxus* ebenfalls zentrale Sinneszellen sind.

Die Funktion des Reissnerschen Fadens.

Die Funktion des intramedullären Sinnesapparates erhellt von selbst, wenn wir dem Vorhandensein des Reissnerschen Fadens im Zentralkanal des Rückenmarks von *Petromyzon* unsere Aufmerksamkeit zuwenden. Leider ist die Frage nach der Präexistenz des Reissnerschen Fadens immer noch eine der am wenigsten aufgeklärten Fragen der Neurologie.

Der von Reissner (42) im Jahre 1860 entdeckte und von Kutschin (36) nochmals im Jahre 1865 beschriebene Faden im Zentralkanal des Rückenmarks von *Petromyzon* wurde später als Artefakt angesehen (Stieda, 48); so betrachten das Gebilde wohl die meisten der gegenwärtigen Neurologen. Edinger in seinen Vorlesungen (12, Bd. II, S. 32) sagt: „Fast niemals findet man den Hohlraum ganz leer und oft kann man sich überzeugen, dass die gerinselartigen Bildungen, welche ihn erfüllen (Reissnerscher Faden der Fische), durch feine Fäden mit der Epitheloberfläche zusammenhängen“. Kolmer (32), welcher das Rückenmark von *Ammocoetes* in letzter Zeit speziell und gewissenhaft untersucht hat, hält den Reissnerschen Faden für das Sekretionsprodukt der Ependymzellen.

Anderer Meinung ist Sargent (44). Er hat sein Material mit den verschiedenartigsten Methoden fixiert und das Vorhandensein des Reissnerschen Fadens nicht nur bei Fischen, sondern auch bei anderen Vertebraten (*Necturus*, Alligator, *Columba* und *Mus*) nachgewiesen.

Nach der Beschreibung von Sargent (4) liegt der Reissnersche Faden im Querschnitt des Rückenmarks neben dem Zentrum des Zentralkanals und ist auf dünnen Schnitten hier nur schwer zu finden. Er stellt nur einen Punkt dar, welcher sich von den lose im Zentralkanal liegenden Körnchen durch nichts unterscheidet. Bei einigen Fischen ist sein Durchmesser bis 10 μ , bei den meisten nur 2 μ . Im Falle eines dicken Fadens (bei *Cynoscion*) kann man an ihm einige färberische Unterschiede beobachten — die axiale Substanz färbt sich nämlich intensiv mit Kongorot und erscheint granular, die periphere Schicht nimmt Hämatoxylinfärbung an. Diese Schicht wird von Sargent als „dark staining sheath“ bezeichnet. In einigen Fällen entspringen vom Reissnerschen Faden dünne Fortsätze, welche zur Peripherie des Kanals sich begeben.

Der Reissnersche Faden läuft, nach den Beobachtungen von Sargent, in der ganzen Länge des Zentralkanals des Rückenmarks bis an das vordere Ende des Tectum opticum. Kaudalwärts zieht der Faden bis an das hinterste Ende des Rückenmarks, soweit, wie überhaupt der Zentralkanal noch sichtbar

bleibt. Der Durchmesser des Fadens nimmt dabei nur sehr wenig ab. Normal sieht der Faden ganz geradlinig aus, hin und wieder wird ein wellenförmiger Verlauf bemerkbar, was bedeuten soll, dass normal der Faden straff gespannt sei. Auch fand Sargent, dass der Faden im vierten Ventrikel geknäuelte verlief; demnach schreibt er dem Faden eine hohe Elastizität zu, wofür auch spricht, dass der geknäuelte Faden doppelt so dick ist, wie der ungeknäuelte. Den Verlauf des Fadens im Gehirn fand Sargent bei allen von ihm untersuchten Tieren als den gleichen.

Im vierten Ventrikel liegt der Faden näher am Dache des Ventrikels und setzt sich in dem engen Durchgang unter den Lobi vagi (bei Teleostiern) in den Aquaeductus Sylvii fort; von da aus tritt er in den dritten Ventrikel hinein, wo er wiederum sich an das Dach hält und zwischen den paarigen Ausstülpungen des Tectum opticum liegt. Am vorderen Ende des Ventrikels läuft der Faden bis zur Commissur, um hier (nach Sargent) in die Gehirnschubstanz einzutreten.

Nun behauptet Sargent, dass der Reissnersche Faden nervöser Natur sei und eine lange Nervenbahn darstelle, welche dazu bestimmt sei, optische Erregungen sofort den motorischen Zentren des Rückenmarks zu vermitteln (45). Zu dieser Annahme gelangte er durch Beobachtungen bei Fischen, bei welchen der Faden experimentell unterbrochen wurde. Sargent meint, dass der Faden aus feinen Nervenfasern und einer Hülle besteht; die Nervenfasern sollen aus Nervenzellen des Dachkerns entspringen, in den Zentralkanal des Rückenmarks eintreten und hier sich mit anderen Nervenfasern verbinden, welche aus motorischen Zellen des Sinus terminalis (terminal canal cells) hervorgehen.

Studnička (49) lieferte gleichfalls sichere Belege für die präformierte Existenz des Reissnerschen Fadens, verwirft aber seine nervöse Natur und betrachtet ihn als eine durch Sekretion entstandene Substanz. Er vergleicht sogar dieses Gebilde mit dem sogenannten Kristallstiel des Magendivertikels der Lamellenbranchiaten.

V. Horsley (22) und Mc. Nalty haben den Reissnerschen Faden im Rückenmark der Makaken gefunden und einige physiologische Schlussfolgerungen gezogen. Sie haben bestätigt, dass bei einer Läsion des Fadens keine Erscheinungen sich zeigen, welche auf eine nervöse Natur des Fadens hindeuten.

Ayers (1) berichtet über das Vorkommen des Fadens im Gehirn von Bdellostoma, nachdem schon Sanders (43) ihn im Gehirn bei Myxine gefunden hatte. Die Angaben von Ayers über die vermutliche Funktion des Fadens sind weniger bestimmt, als die Ansichten der vorhin angeführten Untersucher.

Eine ganz andere Beleuchtung gewinnt der Reissnersche Faden wie in morphologischer, so auch in physiologischer Beziehung in den Arbeiten von Dendy und Nicholls (8, 9). Dendy (7, 9) hat festgestellt, dass der Ependymbezirk, bis zu welchem der Reissnersche Faden gelangt und welcher unter der Commissura posterior liegt, bei allen Vertebraten einen besonderen Bau zeigt und die besondere Bezeichnung „subkommissurales Organ“ verdient. Dieses subkommissurale Organ kommt ebenso wie der

Reissnersche Faden bei allen Gruppen der Vertebraten vor — von den Cyclostomen bis zu den Säugern und Primaten: „I suggested some years ago“, sagt Dendy: „befor the connection of this structure with Reissners fibre was known, that it might aid in the circulation of the cerebrospinal fluid, by means of cilia, which I thought I had detected on the epithelial cells. Whether this be so or not, I now think that the ependymal Groove may have another, and perhaps more important function as an intracerebral sense-organ.“

Auf Grund seiner Beobachtungen spricht Dendy (8) die Vermutung aus, dass der Reissnersche Faden und die subkommissurale Grube Teile eines Apparates darstellen, welcher die Biegungen des Körpers kontrollieren solle. Wegen der Elastizität des Reissnerschen Fadens muss jede Flexion des Körpers den Spannungszustand des Fadens ändern und dadurch die ependymalen Zellen der subkommissuralen Grube auf mechanischem Wege erregen. Zwischen den Ependymzellen der Grube sind vielleicht, nach der Voraussetzung von Dendy, Sinneszellen vorhanden, welche diese Erregungen den in der Tiefe der Gehirns substanz liegenden Nervenzellen übermitteln. Jede Änderung der Haltung des Körpers wird in solcher Weise rein reflektorisch registriert und reguliert. Dendy vergleicht diese vermutliche Tätigkeit dieses hypothetischen Apparates mit der Funktion der halbkreisförmigen Kanäle des Gehörapparates.

Der Mensch hat, nach den Angaben von Dendy (9), nur eine sehr rudimentäre subkommissurale Grube, der Schimpanse nimmt in dieser Beziehung eine intermediäre Stellung zwischen Menschen und geschwänzten Affen wie *Macacus* ein. Mensch und Schimpanse haben auch keinen Reissnerschen Faden. Diese Verhältnisse stellt der Verfasser in Zusammenhang mit dem Fehlen des Schwanzes und dem aufrechten Gang des Menschen; der aufrechte Gang soll die Koordinationsverhältnisse in radikaler Weise ändern.

Dendy glaubt jedoch, dass neben der angegebenen Funktion die subkommissurale Grube auch anderen Zwecken dienen könne, so zum Beispiel der Zirkulation der intracerebralen Flüssigkeit, wenigstens bei *Ammocoetes*.

Die Ansicht Dendys wurde von Nicholls (40) auf experimentellem Wege teilweise bestätigt. Nicholls lenkte die Aufmerksamkeit auf die Tatsache, dass am hinteren Ende des Rückenmarks der Reissnersche Faden bei Fischen eigentlich im Gebiet des *Filum terminale* liege, wo Nervenzellen in der Wand des Rückenmarks noch nicht vorhanden sind. Deswegen werde der Reissnersche Faden bei einer Durchschneidung dieser Stelle des Rückenmarks in bequemer Weise, ohne die Nervenfasern oder die Nervenzellen zu zerstören, unterbrochen werden können. Nicholls durchtrennte nun diese Stelle und fand Störungen in der Haltung der Versuchstiere. Später gleichen sich, wie man wohl annehmen darf, infolge der Regeneration des Fadens diese Störungen wieder aus.

Diese wichtigen Schlussfolgerungen wurden von Nicholls durch die mikroskopische Untersuchung bestätigt, welche auch manches merkwürdige Detail über den Reissnerschen Faden lieferte. So berichtet er über die Befestigung des Fadens im *Ventriculus terminalis*, dass hier der Faden mit

einer Masse (terminal plug) verschmilzt, welche einen konischen Vorsprung bildet. Der strukturlose Faden umfasst die Kuppe dieser Verdickung mit einer trompetenförmigen Erweiterung und sendet vielleicht einige befestigende Fibrillen zu der hinteren Wand des Ventrikels. Nach der Meinung von Nicholls dient eine solche Befestigung zur Sicherung der elastischen Spannung des Fadens. Die konische Verdickung geht unmittelbar in ein fibrilläres Bindegewebe über, so dass man annehmen muss, dass diese Verdickung ebenfalls eine Art Bindegewebe darstellt. Bei der Entwicklung des Fadens zieht derselbe das Bindegewebe allmählich in den Ventriculus terminalis hinein.

Nicholls berichtet ferner von geknäuelten Massen, welche manchmal im Ventriculus terminalis neben dem normal gespannten Faden vorkommen. Er vermutet, dass diese Massen Reste eines einmal im Laufe des Lebens zerrissenen Fadens darstellen, welcher nachher wieder regeneriert wurde.

Bei meinen Untersuchungen über das Gehirn und Rückenmark der Cyclostomen habe ich viele Beobachtungen auch über den Reissnerschen Faden gesammelt. Ich hatte aber früher diese Beobachtungen nicht veröffentlicht, da ich von Anfang an überzeugt war, dass der Reissnersche Faden kein Nervenfaserbündel darstelle, da ich niemals eine spezifische Färbung des Fadens erzielen konnte. Vom präformierten Vorhandensein des Fadens konnte ich aber mich vielfach überzeugen, da man bei der Färbung der frischen Längsschnitte des Rückenmarks mit Methylenblau leicht den Reissnerschen Faden sehen kann. Ich kann mich entschieden den Angaben Sargents und besonders denen von Dendy und Nicholls anschließen. Ich möchte daher, obwohl ich mit anderen Untersuchungsmethoden arbeitete, keine weitere Beschreibung des Fadens geben. Ich meine aber, dass der Reissnersche Faden die gesuchte Erklärung für das Vorkommen der bipolaren Sinneszellen im Ependym des Zentralkanals am besten liefere. Nehmen wir an, dass der straffe Faden bei den Biegungen des Rückenmarks einfach auf die Endknöpfe der Sinneszellen drückt, dann wird der Sinn des ganzen Organs verständlich.

Es wird nämlich dadurch verständlich, warum die Sinneszellen im Rückenmark keine Cilien, sondern Endknöpfe tragen, welche hier wie elektrische Druckknöpfe die Erregung vermitteln. Es wird auch durch meine Annahme verständlich, warum die Sinneszellen im Rückenmark hauptsächlich an den Seitentflächen des Kanals liegen, während sie dorsal und ventral recht selten sind. Im Leben des Tieres sind die seitlichen Biegungen des Körpers viel wichtigere Bewegungen und häufiger vorkommende als

die dorsalen und ventralen Biegungen. In der subkommissuralen Grube konnte ich bisher keine Sinneszellen finden; ich glaube deswegen, dass in diesem Punkt die Theorie von Dendy und Nicholls falsch ist. Die subkommissurale Grube ist, nach meiner Meinung, nur bestimmt für die vordere Anheftung des Reissnerschen Fadens, und, wie schon Sargent zeigte, für die Entwicklung des Fadens. Sargent zeigte nämlich, dass der Faden noch im embryonalen oder larvalen Leben als ein Bündel von feinen, cilienähnlichen Fortsätzen der Zellen der subkommissuralen Grube entsteht und in das Rückenmark hineinwächst.

Die Calamusreihen der Sinneszellen berühren sich wohl kaum mit dem Reissnerschen Faden, obgleich im allgemeinen betrachtet die Berührung bei starker dorsalwärts gerichteter Biegung des Körpers in der Gegend der Medulla oblongata gut möglich ist. Nach dem Vorhandensein der grossen Endknöpfe schliesse ich aber, dass diese Zellen eher für die Wahrnehmung der Zirkulation oder des Drucks der intracerebralen Flüssigkeit, wie die infundibulären Zellen mit ihrem manchmal sehr grossen Endknopf, bestimmt sind.

Zum Schluss werde ich versuchen, das schematische Bild der Zusammensetzung der nervösen Elemente des Rückenmarks von *Petromyzon* zu konstruieren. Nach meinen früheren Angaben und nach der vorliegenden Untersuchung sind im Rückenmark von *Petromyzon* folgende Nervenlemente vorhanden (Fig. 34, Taf. VI):

1. Sensible bipolare intraependymale Zellen (A), 2. effektorische Zellen (B), 3. kommissurale Zellen (C), 4. dorsale Zellen (nicht eingezeichnet); 5. amakrine Koordinationszellen (D).

Nach der Fig. 34, Taf. VI, zu urteilen, liegt bei solcher Auffassung im Rückenmark des *Petromyzon* dasselbe Bild der Konstruktion des zentralen Nervensystems vor, welches wir eigentlich schon von den Coelenteraten angefangen bei vielen Wirbellosen kennen.

Ich sagte oben, dass Dendy die Funktion des Reissnerschen Fadens mit derselben der Otolithen vergleicht. Ich meine, dass der Vergleich wirklich ganz gut passt und dass hier keine blosser Analogie vorhanden ist. Bei den Ascidienlarven ist das statische Organ in der Tat im Gehirn eingeschlossen und entsteht nach den Angaben von Kowalewsky (37) an der dorsalen Wand des

Gehirns. Leider ist dieses Organ der Ascidienlarven bis jetzt nur ungenügend bekannt. Nach dem aber, was wir von ihm wissen, steht nichts im Wege, dieses Organ mit dem Reissnerschen Faden zu vergleichen. Der Fortsatz der Otolithenzelle mit dem in ihm eingeschlossenen Otolithen und einer Pigmentkappe ist ebenso ein exoplasmatisches Gebilde wie der Reissnersche Faden. Man kann wohl nicht sagen, dass der Reissnersche Faden von der Otolithenzelle entstammt, ich glaube dagegen, dass bei den Prochordaten überhaupt ein statisches Organ im Innern des Nervensystems vorhanden war und von diesem Organ durch die im Laufe der Phylogenese stattgefundenen Umwandlungen die Otolithenzelle der Ascidienlarven und der Reissnersche Faden differenziert wurden. Nach den Angaben von Kupffer erregen die Bewegungen des Otolithen die starren Stifftchen der Zellen der Crista acustica der Ascidienlarve. Es scheint also, dass im Nervensystem der Ascidienlarve eine ganz ähnliche Vorrichtung vorhanden ist, wie im Rückenmark von Petromyzon.

Wenn wir weiter noch den Sinneskörper der Ctenophoren mit dem vorausgesetzten Sinnesorgan der Prochordaten in Vergleichung ziehen wollen, so werden wir im Sinneskörper der Ctenophoren gerade beide Elemente, welche gesondert bei Petromyzon und bei den Ascidienlarven vorkommen, treffen.

Im Sinneskörper der Ctenophoren unterscheidet man das Sinnespolster, welches sicher aus den Sinneszellen besteht, vier auf diesem Polster hervorragende S-förmig gekrümmte Federn, welche ebenso wie der Reissnersche Faden aus den zusammengebundenen Cilien bestehen, und den Otolithenhaufen.

Denken wir aber daran, dass die Otolithen in den Zellen des Polsters entstehen und erst später nach aussen ausgestossen werden, so können wir uns die Möglichkeit vorstellen, dass der Otolith, wie bei Ascidienlarven, dauernd in der Zelle stecken bleibt.

Obleich die Tatsachen in dieser Beziehung zu dürftig sind, um die von mir vermutete Zusammengehörigkeit der erwähnten drei Sinnesorgane zu einer vollkommen ausgearbeiteten Hypothese zu erheben, so kann ich doch nicht verhehlen, dass mir diese Meinung sehr plausibel zu sein scheint. Der Reissnersche Faden ist dabei, wenn nicht einfach homolog, doch in einer ähn-

lichen Weise entstanden und tätig wie die Otolithenfeder der Ctenophoren.

Ich möchte schliesslich noch einmal auf die Funktion und Morphologie des Reissnerschen Fadens die Aufmerksamkeit der Neurologen richten, da wir in diesem Gebiet von planmässigen Untersuchungen wahrscheinlich noch neue und sehr wichtige Entdeckungen erwarten dürfen.

Literaturverzeichnis.

1. Ayers, H.: The ventricular Fibres of the Brain of Myxinoidei. Anat. Anz., Bd. 32, 1908.
2. Boeckke, J.: Die Bedeutung des Infundibulums in der Entwicklung der Knochenfische.
3. Derselbe: Über das Homologon des Infundibularorgans bei *Amphioxus lanceolatus*. Anat. Anz., Bd. 21, 1902.
4. Derselbe: Das Infundibularorgan im Gehirn des *Amphioxus*. Anat. Anz., Bd. 32, 1908.
5. Burckhardt, R.: Das Zentralnervensystem der Selachier als Grundlage für eine Phylogenie des Vertebratengehirns. Nova Acta Acad. Caesar. Leopold. Carol., Bd. 73, 1907.
6. Dammerman, K.: Der Saccus vasculosus der Fische ein Tiefeorgan. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 96, 1910.
7. Dendy, A.: On a pair of ciliated Grooves in the Brain of the *Ammonoetes*. Proceed. of the roy. soc. London, Vol. 69, 1902.
8. Dendy, A. and Nicholls, G. E.: The Function of Reissners Fibre and the ependymal groove. Nature, Vol. 82, 1909.
9. Dieselben: On the Occurrence of a mesocoelic Recess in the human brain and its Relation to the sub-commissural Organ of Lower Vertebrates; with special reference to the Distribution of Reissners Fibre in the Vertebrate series and its possible Function. Proceedings of the Royal Society, Ser. B, Vol. 82, 1910.
10. Dogiel, A.: Das periphere Nervensystem des *Amphioxus* (*Branchiostoma lanceolatum*). Anat. Hefte.
11. Edinger, L.: Einiges vom Gehirn des *Amphioxus*. Anatom. Anz., Bd. XXVIII, 1906.
12. Derselbe: Vorlesungen über den Bau der nervösen Zentralorgane des Menschen und der Tiere. Bd. II, 1908.
13. Froriep: Über die Einstülpung der Augenblase. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 66, 1905.
14. Fuchs, F.: Über die Entwicklung des Vorderhirns bei niederen Vertebraten. Zool. Jahrb., Bd. 25, 1908.

15. Gemelli, A.: Sur la structure de la région infundibulaire des poissons. Journ. de l'Anatomie et de la Phys., Nr. 1, 1906.
16. Gegenbaur: Grundzüge der vergleichenden Anatomie der Wirbeltiere. 1898—1901.
17. Haller, B.: Untersuchungen über die Hypophyse und die Infundibularorgane. Morph. Jahrb., Bd. XXV, 1898.
18. Hatschek, B.: Studien zur Segmenttheorie des Wirbeltierkörpers. 2. Das primitive Vorderende des Wirbeltierembryo. Morph. Jahrb., Bd. 39, 1909.
19. Herrick, C. J.: The relations of the central and peripheral nervous systems in phylogeny. Anat. Record., 1910.
20. Hill, Ch.: Two epiphyses in a four-day Chick. Bullet. Northwestern Univ. Med. School, Chicago 1900.
21. His: Zur allgemeinen Morphologie des Gehirns. Arch. f. mikr. Anat., 1892.
22. Horsley: Note on the Existence of Reissner's Fibre in Higher Vertebrates. Brain, Vol. 31, 1908.
23. Johnston: The Brain of Acipenser. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ontog., Bd. 15, 1901.
24. Derselbe: The Brain of Petromyzon. Journ. of compar. Neurology, Vol. XII, 1902.
25. Derselbe: The cranial and spinal ganglia and the visceromotor roots in Amphioxus. Biol. Bull., IX, 1905.
26. Derselbe: The Morphology of the Vertebrate Head from the Viewpoint of the Functional Divisions in the Nervous system. Journ. of comp. Neurol., Vol. XV, 1905.
27. Derselbe: The central nervous system of vertebrates. Erg. u. Fortschr. d. Zool., Bd. II, 1909.
28. Derselbe: A comment upon recent contributions on the brain of Petromyzons. Anat. Anz., Bd. XXXVII, 1910.
29. Derselbe: The morphology of the forebrain vesicle in vertebrates. Journ. of comparat. Neurol. and Physiol., Bd. XIX, 1909.
30. Joseph, H.: Die epidermoidalen Sinneszellen des Amphioxus. Anat. Anz., Bd. 32, 1908.
31. Kappers, A.: Untersuchungen über das Gehirn der Knochenganoiden: Amia calva und Lepidosteus osseus. Abh. d. Senckenb. Naturforsch. Ges. in Frankfurt a. M., Bd. XXX, 1907.
32. Kolmer, W.: Zur Kenntnis des Rückenmarks von Ammocoetes. Anat. Hefte, Bd. XXIX, 1905.
33. Koltzoff, N.: Die Entwicklung des Kopfes von Petromyzon Planeri. Bulletin de la Société impériale des Naturalistes de Moscou. Nouv. Sér., T. 15, 1902.
34. Kupffer, C.: Studien zur vergleichenden Entwicklungsgeschichte der Cranioten. H. 2, 1895.
35. Derselbe: Die Morphogenie des Zentralnervensystems. Handb. d. Entwicklungsgeschichte von O. Hertwig, Bd. II, 1906.

36. Kutschin: Über die mikroskopische Struktur des Rückenmarks von *Petromyzon fluviatilis*. Gelehrte Nachrichten der Universität Kasan, 1865.
37. Kowalewsky, A.: Entwicklungsgeschichte der Rippenquallen. Mém. Acad., St. Petersburg, Sér. 7, Tom. X, 1866.
38. Loey, W.: The derivation of the pineal Eye. Anat. Anz., Bd. IX, Nr. 5, 6, 15, 1894.
39. Nicholls, G. E.: Reissners Fibre in the Frog. Nature, Vol. 82, 1908.
40. Derselbe: An experimental Investigation on the Function of Reissners Fibre. Anat. Anz., Bd. 40, 1912.
41. Pincus: Die Hirnnerven des *Protopterus annectens*. Morph. Arbeit., herausgeg. v. Schwalbe, 1894.
42. Reissner, E.: Beiträge zur Kenntnis des Rückenmarks. Müllers Arch., 1860.
43. Sanders, A.: Researches in the Nervous System of *Myxine glutinosa*. London 1894.
44. Sargent, P. E.: Reissners Fibre in the Canalis centralis of Vertebrates. Anat. Anz., Bd. XVII, 1900.
45. Derselbe: The optic reflex Apparatus of Vertebrates for Short-Circuit-Transmission of Motor Reflexes through Reissners Fibre. Bull. Mus. Comp. Anat. Harvard. Coll., Vol. 45, 1904.
46. Schilling: Über das Gehirn von *Petromyzon fluviatilis*. Abhandl. d. Senckenb. Naturforsch. Ges., Bd. XXX, 1907.
47. Schimkewitsch: Lehrbuch der vergleichenden Anatomie der Wirbeltiere. Stuttgart 1910.
48. Stieda: Studien über das zentrale Nervensystem der Knochenfische. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 18, 1868.
49. Studnička, F.: Der Reissnersche Faden im Zentralkanal des Rückenmarks und sein Verhalten in dem Ventriculus terminalis. Sitz.-Ber. d. kgl. böhm. Ges. d. Wiss. in Prag 1899.
50. Derselbe: Untersuchungen über den Bau des Ependyms der nervösen Zentralorgane. Anat. Hefte, Bd. 15, 1900.
51. Derselbe: Über die Entwicklung und die Bedeutung der Seitenaugen von *Ammocoetes*. Anat. Anz., Bd. 41, 1912.
52. Derselbe: Smyslové ústroje *Amphioxo* a obratlovcu. Lékařský Rozhled, přílohy Časopisu lékařův českých, 1912.
53. Tretjakoff, D.: Das Nervensystem von *Ammocoetes*. I. Das Rückenmark. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 73, 1909.
54. Derselbe: Das Nervensystem von *Ammocoetes*. II. Das Gehirn. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 74, 1909.
55. Derselbe: Das Nervensystem vom Querder. Russisch, St. Petersburg 1910.
56. Vialleton, L.: Eléments de Morphologie des Vertébrés. 1911.
57. v. Wijhe: Über die Mesodermsegmente und die Entwicklung der Nerven des Selachierkopfes. Verh. d. kaiserl. Akad. d. Wiss. zu Amsterdam 1882.
58. Ziegler, H. E.: Lehrbuch der vergleichenden Entwicklungsgeschichte der niederen Wirbeltiere. Jena 1902.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel V und VI.**Tafel V.**

In allen Figuren bedeutet: e = Endknopf; k = Zellkörper; n = Neurit;
z = zentraler Fortsatz.

- Fig. 1. Infundibuläre Zelle von Petromyzon auf dem frontalen Querschnitt durch das Gehirn. N = äusserer Fortsatz der Zelle, welcher unmittelbar in den Nervenfortsatz n sich umwandelt; v = Verästelungen des Nervenfortsatzes in der äusseren Schicht der Wand des Infundibulum (im äusseren Geflecht). Vergrösserung 430 mal.
- Fig. 2. Kurze Sinneszelle aus dem Rückenmark von Ammocoetes. Z = zentraler Fortsatz. Vergrösserung 1500 mal.
- Fig. 3. Lange Sinneszelle aus dem Rückenmark von Ammocoetes. Vergrösserung 1500 mal.
- Fig. 4. Infundibuläre Zellen von Petromyzon. Horizontaler Schnitt des Gehirns von Petromyzon. a = typische bipolare Zelle; b = Zelle, welche sich dem pseudounipolaren Typus nähert; c = Zelle, bei welcher eine Kollaterale des zentralen Fortsatzes sich zur Bildung des Plexus subependymalis begibt; d = multipolare Zelle; g = Zelle, bei welcher eine Kollaterale des Nervenfortsatzes im Plexus subependymalis endet; f = Zelle, deren zentraler Fortsatz vollständig sich dem Plexus subependymalis anschliesst. Vergrösserung 430 mal.
- Fig. 5. Infundibuläre Zellen auf dem horizontalen Schnitt durch das Gehirn von Petromyzon. Komplizierte Endknöpfe und Plexus subependymalis (inneres Geflecht). Ep = Schicht der Ependymzellen; Pe = subependymales Geflecht. Vergrösserung 430 mal.
- Fig. 6. Infundibuläre Zellen aus einem dicken horizontalen Schnitt durch das Gehirn von Petromyzon. Wegen der schiefen Lage der Schichten im Verhältnis zur Oberfläche des Schnittes war es notwendig, die Zellen aus den verschiedenen Ebenen zeichnerisch in die Ebene der Abbildung zusammenzubringen. a = Zelle mit dem varikösen zentralen Fortsatz; b = pseudounipolare Zelle; c = Zelle (wahrscheinlich unipolare), welche keinen zentralen Fortsatz hat und unmittelbar neben den Ependymzellen liegt. Vergrösserung 430 mal.
- Fig. 7. Isoliert gezeichnete infundibuläre Zelle aus dem kranialen Gebiet des Infundibulum von Petromyzon. N = äusserer Fortsatz; Z = zentraler Fortsatz mit einer Kollaterale, welche in den Plexus subependymalis hineintritt. Vergrösserung 430 mal.
- Fig. 8. Infundibuläre multipolare Zelle mit vielen äusseren Fortsätzen. Vergrösserung 430 mal.
- Fig. 9–16. Varianten der Endknöpfe der infundibulären Zellen von Petromyzon. Nur die zentralen Fortsätze sind abgebildet, der Zellkörper wurde weggelassen. f = seitliche Ästchen. Vergrösserung 430 mal.
- Fig. 17. Neurofibrilläres Netz in der infundibulären Zelle von Petromyzon. M = mikrosomale Anhäufung; N = Kern. Vergrösserung 1500 mal.

Fig. 18. Sinneszellen neben der medianen Rinne des Calamusgebietes der Rautengrube von *Petromyzon*. Totales Präparat. Vergrößerung 270 mal.

Sämtliche Zeichnungen dieser Tafel sind Präparaten des Gehirns und des Rückenmarks von *Ammocoetes* und *Petromyzon fluviatilis* entnommen. Die Präparate sind intra vitam mit Methylenblau gefärbt worden.

Tafel VI.

- Fig. 19. Frontaler Querschnitt des Rückenmarks von *Petromyzon*. D = dorsaler Ependymkeil; E = Ependymzellen; J = Sinneszellen; V = ventraler Ependymkeil; Z = Zentralkanal. Vergrößerung 300 mal.
- Fig. 20. Horizontaler Längsschnitt des Rückenmarks von *Petromyzon*. R = Reissnerscher Faden; S = Sinneszellen; H = Hohlraum des Zentralkanals. Vergrößerung 300 mal.
- Fig. 21. Sinneszelle aus dem Rückenmark von *Petromyzon*. Kleinere Art mit den quergelagerten Neurofibrillen. Vergrößerung 1500 mal.
- Fig. 22. Sinneszelle kleinerer Art mit längsverlaufenden Neurofibrillen. Vergrößerung 1500 mal.
- Fig. 23. Sinneszelle mit gleichmässig verteilten Neurofibrillen, die ein Netz mit fast gleich breiten Schlingen bilden. Im Endknopf sind die argentophilen Körnchen sichtbar. Vergrößerung 1500 mal.
- Fig. 24. Sinneszelle mit einer neurofibrillären Schlinge im Endknopf. Vergrößerung 1500 mal.
- Fig. 25. Sinneszelle mit unregelmässigem bipolarem Körper. Im Neurofibrillennetz ist eine dickere Hauptfibrille sichtbar, die auch weiter bis zum Endknopf reicht. Vergrößerung 1500 mal.
- Fig. 26. Sinneszelle seltener Art mit dem lateral und unterhalb des Zellkernes gelagerten Abschnitt des neurofibrillären Netzes. Ausser dem Nervenfortsatz ist noch ein kurzer seitlicher Fortsatz vorhanden. Vergrößerung 1500 mal.
- Fig. 27. Sinneszelle mit reichem Neurofibrillennetz, welches auch den Kern allseitig und vollständig umhüllt. Im Endknopf sind die argentophilen Mikrosomen vorhanden. Vergrößerung 1500 mal.
- Fig. 28. Sinneszelle mit einem nur oberhalb des Kernes gelagerten Netz von Neurofibrillen, welche auch in den Endknopf hineintreten. Vergrößerung 1500 mal.
- Fig. 29. Sinneszelle grösserer Art mit einem dünnen zentralen Fortsatz und einem gleichmässigen Neurofibrillennetz. Vergrößerung 1500 mal.
- Fig. 30. Sinneszelle grösserer Art mit einem dünnen zentralen Fortsatz und einem spärlichen Neurofibrillennetz mit der Endschlinge im Endknopf. Vergrößerung 1500 mal.
- Fig. 31. Sinneszelle grösserer Art mit einer terminalen Neurofibrillenschlinge, welche nicht im Endknopf, sondern unterhalb derselben endet. Vergrößerung 1500 mal.

- Fig. 32. Sinneszelle derselben Art mit einer Hauptfibrille im Neurofibrillen netz. Vergrößerung 1500 mal.
- Fig. 33. Sinneszelle mit einer Hauptfibrille im zentralen Fortsatz, welche aber in ihrem Verlauf sich mehrmals entbündelt. Vergrößerung 1500 mal.
- Fig. 34. Schema der gegenseitigen Beziehungen der nervösen Elemente des Rückenmarks bei Petromyzon. A = Sinneszellen; B = effektorische Zellen; C = assoziative Kommissurenzellen; D = amakrine Zellen; n = Neurit; Z = Zentralkanal.
-

Aus dem Histologischen Institut in Wien.

Über Frühstadien der Entwicklung von Schuppe und Feder.

Von

Joseph Schleidt.

Seinem verehrten Lehrer Herrn Hofrat v. Ebner anlässlich des Rücktrittes vom Lehramte zugeeignet.

Hierzu Tafel VII.

Noch vor verhältnismässig kurzer Zeit ging die allgemeine Meinung dahin, dass Reptilienschuppe und Feder homologe Gebilde seien. Die Embryonaldune wurde gewöhnlich als Bindeglied aufgefasst.

Da der gegenwärtige Stand der Frage „Feder und Schuppe“ nicht allgemein bekannt sein dürfte, sei es mir erlaubt, zunächst kurz darüber zu berichten. Ich erwähne natürlich von den vielen Arbeiten nur diejenigen, die sich mit der Homologie von Schuppe und Feder befassen. Und auch von diesen will ich nur je ein paar Worte sagen, da ich ja auf die meisten derselben im Verlauf der Arbeit zurückkomme. Auf Vollständigkeit macht diese Literaturübersicht keinen Anspruch.

Die älteren Arbeiten befassen sich ausschliesslich mit der Anatomie und Entwicklung der Feder; ich erwähne da nur Remaks Untersuchungen über die Entwicklung der Wirbeltiere (1855) und Pernitza „Bau und Entwicklung des Erstlingsgefieders, beobachtet am Hühnchen“ (Sitzungsber. d. Wiener Akademie, 1871).

Kerbert (1876. Über die Haut der Reptilien und anderer Wirbeltiere, Arch. f. mikr. Anat. XIII) weist auf die Ähnlichkeit der Feder und Schuppe in der Entwicklung hin. Als Zwischenglied zwischen der Schuppe und der entwickelten Feder führt er die Pinguinfeder an, von der er eine eingehende Beschreibung gibt. Den Umstand, dass sich Federn auf den Lauschuppen finden, scheint er nicht gekannt zu haben, er erwähnt nichts davon. Er hält Feder, Reptilien- und Lauschuppe für homolog.

Jeffries (1884, The Epidermal system of birds, Proc. Boston Soc. nat. hist., Vol. 22) beschreibt die Haut der erwachsenen

Tiere und dann ihre Entwicklung, dann die Entwicklung der Federn und Laufschruppen. Er beschreibt das Vorkommen von Federn auf Laufschruppen und hält daher letztere für nichthomologen Reptilienschuppen.

Klee (1886, Bau und Entwicklung der Feder, Hallesche Zeitschr. f. Naturw., Bd. 59) hält Haar, Feder und Schuppe für Faltenbildungen des Rete Malpighii, die sich nach der Seite vorbuchten, wo der geringste Widerstand ist, also bei jungen Stadien nach aussen, bei älteren nach innen; so erklärt er die zapfenförmige Haaranlage. Schuppe und Feder hält er für homolog. „Die Ähnlichkeit zwischen Schuppe und Feder, die sich z. B. an den Flügeln von Aptenodytes einander sehr nähern, ist so gross, dass, wenn die Ähnlichkeit des Knochenbaues der Reptilien und Vögel sowie ausgestorbene Formen . . . unbekannt wären, die Entwicklungsgeschichte aus beiden Epidermisgebilden nahe verwandtschaftliche Beziehungen folgern müsste.“

Davies (1889, Die Entwicklung der Feder und ihre Beziehungen zu anderen Integumentgebilden, Morph. Jahrb., Bd. 15) hält den Besitz von kleinen Federn auf dem Lauf und auf der oberen Fläche und den Seiten der Zehen für den primären Zustand. Die Federn wurden rudimentär und verschwanden; an ihre Stelle traten Schuppen und Schilder, die ihren Ursprung als Verdickungen der Haut um die Ansatzstelle der Feder nahmen.

Ficalbi (1891, Sulla architettura istologica di alcuni peli degli ucelli con considerazione sulla filogenia dei peli e delle penne, Atti. della soc. Toscana d. sc. natur. memor. Vol. 11) schliesst sich der Ansicht, dass die Federn von den Schuppen abzuleiten seien, im Prinzip an. Er leitet sie aber nicht direkt von den „squame rettiliane“, sondern von primären „produzioni rilevate“ der Reptilienhaut ab, die sich nach der einen Richtung hin zu Schuppen, nach der anderen zu Federn und Haaren entwickelt hätten. Als Übergang führt er den Bruststachel von Meleagris gallopavo an.

Gadow (1891, In Bronns Klassen und Ordnungen, Leipzig) vergleicht die Schuppen mit wachsenden Federn und beschreibt an der Laufbekleidung der Ratiten alle Übergänge von der Schuppe zur Feder. Er hält also Feder, Reptilien- und Laufschruppe für homolog.

Maurer (1895, Die Epidermis und ihre Abkömmlinge, Leipzig) erwähnt den Umstand, dass sich auf Laufschruppen Federn

finden, zweifelt aber daran, dass die Laufschuppen den Reptilienschuppen homolog seien.

Keibel (1896, *Ontogenie und Phylogenie von Haar und Feder*, *Ergebn. der Anat. u. Entwicklungsg.*, 5. Bd.) erklärt, „bei dem Verhalten der Federanlagen auf den Laufschuppen Bedenken zu tragen, Feder und Schuppe vollkommen zu homologisieren“. Er betrachtet „die Feder als homolog einem besonders ausgebildeten Teil einer Schuppe, nicht der ganzen Schuppe“.

Oppenheimer (1896, *Über eigentümliche Organe in der Haut einiger Reptilien*, *Morphol. Arbeiten*, 5. Bd.) beschrieb bei *Hatteria* an den Schuppen des Lippenrandes „punktförmige Flecken“. An der Stelle der Flecken beschreibt das Bindegewebe einen nach unten konvexen Bogen, in welchem ein dichter Haufen von Bindegewebszellen liegt. Das Stratum Malpighii zeigt über dem Zentrum dieses Zellhaufens eine einfache Lage von Zylinderzellen, über der Peripherie kubische Zellen. Das stratum corneum ist etwas bräunlich verfärbt. Ähnliche Organe fand Oppenheimer bei *Crocodilus porosus* und *Alligator sclerops*.

Gegenbaur (1898, *Vergleichende Anatomie der Wirbeltiere*, I. Bd.) hält Feder und Schuppe für homologe Gebilde.

Krause (1902, *Entwicklung der Haut und ihrer Nebenorgane in Hertwigs Handbuch der Entwicklungslehre*, Jena) leitet die Federn von Reptilienschuppen ab, nicht aber die Laufschuppen, da diese Federn tragen können, „und eine Feder nicht auf der anderen wachsen“ könne. Krause unterscheidet mithin „primäre Schuppen“ und „sekundär gebildete Laufschuppen“.

Wiedersheim (1909, *Einführung in die vergl. Anat.*, Jena) hält Schuppen und Federn für homologe Bildungen.

Grobbe (1910, *Lehrb. d. Zoologie*, Marburg) hält Schuppe und Feder für homolog.

R. Hertwig (1912, *Lehrb. d. Zoologie*, Jena) fasst die Feder als einen „langen Hornauswuchs der Haut“ auf, „welcher auf einer Papille der Lederhaut sich entwickelt hat und von der Oberfläche aus eine Strecke weit in die Lederhaut eingesenkt worden ist, eine Auffassung, die vollkommen der Entwicklung der Feder entspricht und ihre Gleichartigkeit mit den Schuppen der Reptilien dartut“.

Schaub (1912, *Die Nestdunen der Vögel und ihre Bedeutung für die Phylogenie der Feder*, *Verh. d. naturforsch. Ges. in Basel*, 23. Bd.) gibt eine Abbildung einer Puderdune von *Rhinocetus*

jubatus, der zwei Neoptile aufsitzen. Die Neoptile ist also eine Spitze der ersten Federgeneration, keine eigene Federgeneration und kann daher auf keinen Fall als Zwischenglied zwischen Schuppe und Feder aufgefasst werden.

Da die Meinungen der Autoren über die phylogenetische Bedeutung der Embryonaldune auseinandergehen, schien es mir notwendig, auch diese in den Kreis meiner Betrachtungen zu ziehen. Diese Mitteilung soll sich ausschliesslich mit dem Verhältnis zwischen Schuppe und Embryonaldune befassen.

Einer der wichtigsten Gründe, die gegen die Homologie von Schuppe und Feder sprechen, scheint mir die Tatsache zu sein, dass sich auf den Lauschuppen mancher Vögel Federn finden. Sind nun die Lauschuppen der Vögel den Reptilienschuppen homolog, so können die Federn unmöglich den Reptilienschuppen entsprechen. Es handelt sich also darum, die Homologie der Lauf- und Reptilienschuppen aus der Ähnlichkeit der Entwicklung nachzuweisen. Gleichzeitig war ich bestrebt, die Beziehungen zwischen Schuppen und Federn zu studieren.

Zu diesem Zwecke habe ich Schnittserien von jüngeren Hühnchen und Ringelnatterembryonen, sowie Serien von Längs- und Querschnitten durch die Läufe älterer Hühnchenembryonen angefertigt. Zur Fixierung verwendete ich Pikrin-Sublimat. Ich habe mich dabei teils der Celloidin-, teils der Paraffinmethode bedient. Zur Färbung wurde meist Hämatoxylin und Eosin verwendet. Ausserdem habe ich Serien von Hühnerembryonen und Schnitte von einem Amselembryo benutzt, welche Herr Prof. Hochstetter mir freundlich überliess, wofür ich ihm auch hier ergebenst danke.

An diesem Materiale habe ich die erste Anlage von Reptilienschuppe, Lauschuppe und Feder verglichen.

Der erste, der die Entwicklung der Reptilienschuppe ausführlich beschrieb, war Conrad Kerbert. In engem Anschluss an ihn möchte ich dieselbe kurz skizzieren.

Er geht von der Einteilung und Entwicklungsperioden aus, die Rathke¹⁾ aufgestellt hat.

I. Periode: Von der Befruchtung des Eies bis zum Erscheinen sämtlicher Kiemenspalten und Schluss des Darmnabels.

II. Periode: Bis zum völligen Schluss der Kiemenspalten.

¹⁾ Entwicklungsgeschichte der Natter, Königsberg 1839.

III. Periode: Bis zur Färbung der Hautbedeckung.

IV. Periode: Bis zum Abstreifen der Eihüllen.

Zur Zeit der II. Periode ist bei *Tropidonotus natrix* die Epidermis zweischichtig. „Die obere Schicht besteht aus platten Zellen (Epitrichialschicht), die untere aus zylindrischen, deren ovale Kerne senkrecht zur Oberfläche gestellt sind (Schleimschicht). Unter der unteren Zellenlage sieht man die erste Anlage der Cutis. In dieser Entwicklungsperiode ist die Cutis noch vollkommen flach, ohne Papillen.“

Im Anfang der III. Periode begegnen wir den ersten Papillen. „Es sind kleine Höckerchen, entstanden durch partielle Wucherung des unter der Epidermis liegenden Bindegewebes. Die Epidermis ist im allgemeinen noch beschaffen wie in der II. Periode, nur zeigen sich an den Erhebungen zwischen Epitrichial- und Schleimschicht einige runde Zellen, die durch Querteilung der darunter liegenden zylindrischen Zellen der Schleimschicht entstanden sind.“ Den Erhebungen entsprechend finden wir eine Anhäufung von Bindegewebszellen. Das spricht wohl dafür, dass die Cutis an der Bildung der Papille sich aktiv beteiligt. Eine Abgrenzung der Papille von der Umgebung konnte ich in diesem Stadium in Gegensatz zu Kerbert nicht wahrnehmen. Im Gegenteil scheinen mir die Papillen eine „ondulazione in toto“ (Ficalbi) zu bilden, entsprechend den tubercolini Ficalbis¹⁾

Auch der Ansicht Kerberts, dass diese Papillen radiär symmetrisch seien und eine Zeitlang so weiterwachsen, kann ich mich nicht anschliessen. An den von mir beobachteten Stadien konnte ich am Sagittalschnitt durch den Embryo überall eine kraniale längere, sanfter ansteigende und eine kaudale kurze, steil abfallende Seite erkennen. Die oben beschriebene Zellwucherung der Epidermis findet sich zuerst in der kranialen, erst später auch in der kaudalen Hälfte der Papille (Abb. 1, 2).

Auch die Entwicklung der Lauschuppen der Vögel hat zuerst Kerbert eingehend beschrieben. Ich will wieder an seine Befunde anknüpfen. Die Epidermis am Lauf eines Hühnchenembryos

¹⁾ Ficalbi (1891) bezeichnet als einfachste „produzione rilevata della pelle dei rettili“ das „tubercolino“. Er beschreibt dasselbe wie folgt: „piccolo rilievo dermoepidermico, che si impianta sul piano cutaneo alla costituzione del quale il derma prende solo parte come protuberanza della parte superficiale e in corrispondenza del quale la epidermide si ingrossa alquanto . . .“

von 7 d ist zweischichtig, bestehend aus einer zylindrischen Schleimschicht und einer aus platten Zellen bestehenden Epiteichialschicht. Die Cutis zeigt noch keinerlei Erhebungen. Später bilden sich zwischen diesen beiden Lagen runde Zellen, welche durch Teilung aus der Schleimschicht hervorgegangen sind. Am 11. Tage sehen wir die ersten Papillen, Anlagen der künftigen Schuppen. Sie sind ziemlich flach und nicht, wie Kerbert sie beschreibt, radiär, sondern bilateral symmetrisch, indem sie im Längsschnitt ein Dreieck geben, dessen proximaler Schenkel länger ist als der distale. Auch die Epidermis beteiligt sich lebhaft an dem Vorgang durch Zellvermehrung, die an der proximalen Hälfte der Papille stärker ist. Der bilateral-symmetrische Charakter der Papille wird in den späteren Stadien immer deutlicher, bis schliesslich die Papille umbiegt und man dann eine obere und untere Schuppenfläche unterscheiden kann (Abb. 4). Jeffries (1884) macht Kerbert den Vorwurf, er habe nur Längsschnitte von Hühnchenläufen untersucht und keine Querschnitte; sonst hätte er sehen müssen, dass die Gebilde am Hühnchenlauf keine wahren Schuppen, sondern Falten (folds or flaps) seien. Betrachten wir jedoch die Querschnitte genauer, so können wir an jungen Stadien, etwa 12 d, an einigen Stellen eine deutliche Verdickung der Epidermis wahrnehmen (Abb. 3). Der Höcker der Cutis ist infolge der starken Krümmung nicht wahrzunehmen. Schon am 14. Tage zeigt auch der Querschnitt deutliche Erhebungen der Cutis, über welchen ihrerseits die Epidermis verdickt ist. Die Laufschuppen des Hühnchens entwickeln sich also nicht als Falten, wie Jeffries meint, sondern verhalten sich in ihrer ersten Anlage wie die Reptilienschuppen.

Es erübrigt noch, die Entwicklung der Embryonalnunen zu skizzieren. Ich will hier den klassischen Untersuchungen Davies, der Tauben- und Hühnchenembryonen untersuchte, folgen. Zur Zeit der Federentwicklung besteht auch hier die Epidermis wieder aus zwei Lagen, der aus Zylinderzellen bestehenden Schleimschicht und der Epiteichialschicht aus platten Zellen. An einem 7 tägigen Hühnchenembryo sieht man am Rücken in der Cutis in regelmässigen Abständen voneinander Gruppen von Bindegewebszellen. Über diesen Zellgruppen ist die Epidermis verdickt (Abb. 5, 6). Nach Davies nehmen beide Schichten der Epidermis an der Zellwucherung teil. Mir schien es jedoch, als ob es sich bloss

um eine Neubildung von Zellen in der Schleimschicht handelte.¹⁾ Schon zu dieser Zeit bildet der Zellhaufen in der Cutis eine kleine bilateral-symmetrische Papille mit einer kranialen sanft ansteigenden und einer kaudalen etwas steiler abfallenden Seite. Die Epidermisverdickung finden wir an der kranialen Seite. Eine „runde Warze“, wie Davies sie beschreibt, worunter er wohl eine radiär-symmetrische Papille versteht, konnte ich nie beobachten. Diese Papillen sind nicht scharf begrenzt und bilden wie die Schuppenanlagen eine „ondulazione in toto“. Die Papille wächst nun und ihre Neigung nach rückwärts wird immer deutlicher. War bei der ersten Anlage der Papille die Epidermiswucherung fast nur an der kranialen Seite zu sehen, finden wir in diesem etwas älteren Stadium (Hühnchenembryo von 8 d, Abb. 7) die Epidermis auch an der Spitze und an der kaudalen steil abfallenden Seite verdickt; an der letzteren sogar am stärksten. In einigen Fällen konnte ich sogar eine Trennung der beiden Epidermisverdickungen wahrnehmen, so dass man die eine verdickte Stelle der Epidermis an der kranialen Seite der Papille und davon durch eine Stelle weniger verdickter Epidermis getrennt die Verdickung an der Spitze und der kaudalen Seite des Höckerchens sieht. Ausserdem finden wir eine bedeutende Zellwucherung in der Cutis, die so stark ist, dass bei schwacher Vergrößerung die Cutis an der Spitze der Papille einem adenoiden Gewebe ähnlich sieht. Durch diese beiden Momente, die Zellwucherung an der Spitze und der kaudalen Seite des Höckerchens, sowie durch die viel stärkere Zellwucherung in der Cutis ist der erste Unterschied zwischen Schuppen- und Federanlage gegeben. An noch etwas älteren Stadien (an einem Hühnchenembryo von 8 d 20 h) konnte ich beobachten, dass an der nach rückwärts geneigten Spitze der Papille der Krümmungsradius ein kleinerer ist als in den übrigen Partien des Höckerchens, so dass es fast den Anschein hat, als wenn auf dem ersten Wäzchen sich ein zweites, nun wirklich rundes, etablieren wollte (Abb. 9); denn man kann es sowohl im Längs- als auch im Querschnitt als Halbkreis wahr-

¹⁾ Davies findet, dass die an den übrigen Stellen der Epidermis ganz platten Zellen der Epitrichialschicht über den Papillen höher, kubischer werden. Ich halte diese Erscheinung, die ich auch beobachten konnte, für eine Folge eines Schrägschnittes. Es ist ja sehr leicht möglich, dass ein Schnitt die übrige Epidermis normal trifft, die Papille aber schräg.

nehmen. Ich werde am Schluss der Abhandlung auf diese Verhältnisse noch zurückkommen.

An noch älteren Stadien (9d alter Hühnchenembryo) kann man in regelmässigen Abständen voneinander stehende Papillen sehen, die sich sehr scharf von der Umgebung abheben und nach rückwärts geneigt sind (Abb. 13). Der Zwischenraum zwischen zwei solchen Wärzchen ist bedeutend grösser als der Durchmesser der Basis eines solchen. Diese Papillen gleichen in ihrer Grösse und ihrem Krümmungsradius annähernd den Spitzen der oben beschriebenen Höckerchen. Über ihnen ist die Epidermis ziemlich gleichmässig verdickt. In der Cutis sieht man eine Zellwucherung, die sich aber nicht allein auf die Papille, sondern auch auf die unmittelbare Umgebung derselben erstreckt. In der Cutis sieht man in jeder Papille schon in diesem Stadium eine Kapillare. An Querschnitten durch Hühnchenembryonen von diesem Alter kann man zuweilen sehen, dass diese Wärzchen an der Kuppe von sanften Höckerchen sitzen, welche ineinander übergehen (Abb. 11). Zuweilen sieht man auch an Längsschnitten solche Bilder; die oft schon ziemlich lange Papille hebt sich dann, ihrer nach hinten gerichteten Stellung entsprechend, an der kaudalen Seite scharf, an der kranialen Seite hingegen nur wenig von der sanften Erhebung, der sie aufsitzt, ab (Abb. 10).

Ich möchte jetzt das Verhalten der Federanlagen am Lauf vom Hühnchen beschreiben, an der Stelle, wo die Federbekleidung aufhört und die Schuppen beginnen. Dies ist in der Gegend des Tarsus. Man sieht an 11—12d alten Embryonen am oberen und mittleren Teil der Tibia Federwärzchen ungefähr in dem Entwicklungsstadium, wie wir sie am Dorsum eines 9tägigen Embryos finden. Am untersten Teil der Tibia sehen wir gewöhnlich Schuppenanlagen, die sich von denen am Metatarsus auf den ersten Blick durch reichlichere Zellwucherung in der Cutis unterscheiden. Ferner sieht man nicht selten an diesen Schuppenanlagen eine scharfe, nach unten gerichtete Spitze. Sie gleichen jenen Gebilden am Dorsum des 8d 20h alten Embryos, welche ich oben beschrieben habe. In anderen Fällen wieder sieht man runde Federwärzchen auf ganz flachen Erhebungen aufsitzen (Abb. 12). Ob aus diesen Gebilden Federn oder Schuppen oder federtragende Schuppen werden, ist natürlich schwer zu entscheiden.

Wir wollen uns nun den federtragenden Schuppen zuwenden. Es ist schon lange bekannt, dass auf den Laufschuppen mancher Vögel (Tauben, Strauss) regelmässig Federn sich finden. Auch beim Hühnchen kann man das zuweilen beobachten.

Abb. 14 zeigt den Lauf eines 14d alten Hühnchenembryos. Wir sehen an der medialen Seite des Laufes Erhebungen, welche in Längsreihen angeordnet sind, die Anlagen der Schuppen und Schilder. Diese Gebilde stehen dicht nebeneinander, sind nur durch eine seichte Furche getrennt und gehen so förmlich ineinander über: sie bilden eine „ondulazione in toto“. Letzteres Verhalten ist besonders an den Phalangen der Zehen deutlich. An der lateralen Seite des Laufes sehen wir lange Zapfen, deren Spitze zumeist umgebogen ist. Solche Gebilde finden wir am Rücken von 10d oder 11d alten Hühnchenembryonen. An der dorsalen Seite des abgebildeten Laufes sehen wir am oberen Teil kleine radiär symmetrische Erhebungen, welche nicht wie die Schuppenanlagen ineinander übergehen, sondern immer in Abständen stehen, die grösser sind als der Durchmesser der Papille. Diese Gebilde sind verschieden gross und wir finden Übergänge vom kleinen Wärzchen bis zum langen Zapfen. Am unteren Teil der dorsalen Seite des Laufknochens sowie an der Streckseite der Zehen sehen wir in Längsreihen angeordnete Schuppen, von denen jede an der Umschlagstelle ein kleines Wärzchen trägt, das den eben beschriebenen Federanlagen gleicht und in Anbetracht des Umstandes, dass Federn auf den Laufschuppen vorkommen, als solche gedeutet werden darf. Wir sehen alle Übergänge: im oberen Teil eine kaum ausgeprägte Schuppenanlage mit einer deutlichen Federpapille, im unteren und mittleren Teil des Laufknochens gut ausgebildete Schuppenanlagen mit einer kleinen Spitze an der Umschlagstelle.

Davies hat diese Tatsache — Federn auf der Schuppe — zuerst bei Tauben beschrieben und abgebildet. Er deutet es dahin, dass die Schuppen, auf denen die Federn stehen, wallartige Erhebungen um die Federn sind.

Maurer erwähnt ebenfalls diese Verhältnisse am Vogellauf und erwähnt folgende Erklärungsmöglichkeiten: 1. Es können die Laufschuppen nicht homolog den Reptilienschuppen sein, sondern Neuerwerbungen der Vögel. 2. Es können die Laufschuppen „durch Konkreszenz entstanden sein, so dass eine Vogellaufschuppe einem

Komplex von Reptilienschuppen homolog wäre. Von solchen wäre dann eine als Feder weiter differenziert worden.“

Davies Annahme, dass es sich um eine wallartige Bildung handle, erscheint nach Betrachtung der embryonalen Verhältnisse kaum wahrscheinlich. Ebenso die Vermutung Maurers, die Laufschuppen könnten durch Konkreszenz entstanden sein.

Bezüglich der Annahme, die Laufschuppen seien Neuerwerbungen der Vögel, wird man wohl zugeben müssen, dass bei der Übereinstimmung in der Entwicklung ihre Homologie mit den Reptilienschuppen ebenso wahrscheinlich, ist wie die zwischen Feder und Schuppe.

Ich möchte aber noch ein Beispiel anführen, das zeigt, dass Schuppenanlagen nicht bloss an den Läufen der Vögel vorkommen. Abb. 15 zeigt die obere Extremität eines Amselembryo. Wir sehen an der ulnaren Seite in Längsreihen angeordnete faltenartige Erhebungen der Haut. Auf der Umschlagstelle einer jeden Falte bemerkt man ein langes fadenförmiges Gebilde, unzweifelhaft die künftigen Embryonaldunen. An der radialen Seite kann man ebenfalls in einer Reihe hintereinander stehende Querringe beobachten, die aber noch keine Faltung zeigen. Auch an diesen Ringen sieht man an der Stelle der höchsten Erhebung je ein feines Wärzchen, ähnlich denen an anderen Körperteilen des Embryos, wo das Federkleid noch wenig entwickelt ist. Diese Gebilde als Schrumpfung aufzufassen, ist nicht gut möglich; einmal ist ihre Anordnung eine zu regelmässige und ausserdem wäre es wohl ein merkwürdiger Zufall, dass dort, wo die Federn bereits ziemlich entwickelt sind, sich Falten finden, dort, wo die Federanlagen noch jünger, nur Ringe zu sehen sind. Es wäre eher anzunehmen, dass die zartere Haut der radialen Seite stärker geschrumpft wäre.

Zusammenfassung.

Obige Untersuchungen ergeben nun folgendes:

1. Die Laufschuppen des Hühnchens entwickeln sich nicht, wie Jeffries meint, als Falten, sondern verhalten sich in ihrer ersten Anlage wie die Reptilienschuppe.
2. Am Rumpfe der Ringelnatter, am Rumpfe des Hühnchens und an den Läufen des Hühnchens entwickeln sich sehr ähnliche Gebilde, kleine Höckerchen, die vom Anfange

an bilateral-symmetrisch sind, indem sie am Rumpf kaudalwärts, an den Extremitäten distalwärts steiler abfallen. Sie bestehen aus einer Zellwucherung der Cutis und einer Zellwucherung der Epidermis; letztere ist nicht an der Spitze der Papillen am dicksten, sondern an der längeren (kranialen bzw. proximalen) Fläche des Höckerchens. Diese Höckerchen gehen ohne scharfe Grenze ineinander über; sie bilden eine „ondulazione in toto“.

3. Wo Federn zur Anlage kommen, sieht man am 2. Tag ihres Bestandes an der Spitze und der steil abfallenden Seite der Papille eine Wucherung der Epidermis, später sieht man die Spitze des Höckerchens scharf hervortreten. Noch später sieht man die einzelnen Federanlagen in grossen Abständen voneinander als zirkumskripte Papillen. Es liegt die Vermutung nahe, dass sich die zuerst aufgetretene „ondulazione in toto“ rückgebildet hat und nur die Spitze der ursprünglichen Wärzchen geblieben ist, um sich nun weiter zu entwickeln.
4. Der Lauf des Hühnchenembryo und die obere Extremität des Amselembryos zeigen, dass sich auf Schuppen Embryonal-dunen finden. Wir finden an diesen beiden Embryonen alle Übergänge von dem Stadium, wo auf einem flachen Höckerchen ein kleines spitzeres aufsitzt, id est, wo der Krümmungsradius der Spitze grösser ist als der der Peripherie, bis zu dem Stadium, wo wir deutlicher umschriebene Wärzchen finden, die auf gut ausgebildeten Schuppen stehen.
5. Möchte ich noch darauf hinweisen, dass Oppenheimer (1896) Organe auf den Schuppen am Lippenrande von *Hatteria punctata* beschrieben hat, die bis zu einem gewissen Grad den ersten Federanlagen (Epidermisverdickung, Zellvermehrung in der Cutis) gleichen. Es kommen also auch an Reptilienschuppen Differenzierungen vor.

Ich habe diese Punkte zusammengestellt, weil sie mir gegen die Homologie von Reptilienschuppe und Embryonaldune zu sprechen scheinen. Die Dunenanlagen können in einem sehr frühen Stadium als besondere Differenzierungen auf Schuppenanlagen erkannt werden. In dieser Meinung werde ich durch eine vor kurzem erschienene Arbeit von Schaub bestärkt,

welcher an reichem Material nachweist, dass die Embryonaldunen keine eigene Federgeneration, sondern bloss die Spitzen der bleibenden Federn sind, dass also eine Homologie zwischen Schuppe, Embryonaldune und definitiver Feder nicht besteht. Es gebricht mir derzeit an Material, seine Untersuchungen nachzuprüfen. Aus demselben Grund muss ich eine Vergleichung der definitiven Feder und Laufschruppe bis auf weiteres verschieben.

Diese Arbeit wurde im Embryologischen Institut in Wien unter der Leitung Prof. Rabls begonnen und im Histologischen Institut in Wien vollendet. Es ist mir ein Bedürfnis, Herrn Hofrat von Ebner und Herrn Prof. H. Rabl für ihre freundliche Anteilnahme und Hilfe, die sie meiner Arbeit angedeihen liessen, meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel VII.

Die Abb. 1—14 wurden im Histologischen Institut in Wien mit der mikrophotographischen Camera von Reichert nach mikroskopischen Präparaten hergestellt. Die Präparate der Abb. 7 und 12 verdanke ich der Liebenswürdigkeit Herrn Professor Hochstetters. Die Herstellung der Photographien übernahm mein Freund stud. med. Alfred Wiesenthal, dem ich hierfür meinen Dank ausspreche. Die Abb. 14 und 15 wurden von Herrn H. Dümler hergestellt.

Abkürzungen, die alle Abbildungen betreffen:
cr = kranial; ca = kaudal; pr = proximal; di = distal.

- Abb. 1. Embryo von *Tropidonotus natrix*, Bauchregion, sagittal.
- Abb. 2. Embryo von *Tropidonotus natrix* quer.
- Abb. 3. Lauf eines Hühnchenembryo von 12^d quer.
- Abb. 4. Lauf eines Hühnchenembryo von 13^d längs.
- Abb. 5. Hühnchenembryo von 7^d längs, Rücken.
- Abb. 6. Hühnchenembryo von 11,3 mm Kopflänge quer, Rücken.
- Abb. 7. Hühnchenembryo von 8^d längs, Rücken.
- Abb. 8. Hühnchenembryo von 8^d längs, Rücken.
- Abb. 9. Hühnchenembryo von 8^d 20^h längs, Rücken.
- Abb. 10. Hühnerembryo von 9^d längs, Rücken.
- Abb. 11. Hühnerembryo von 15 mm Kopflänge quer.
- Abb. 12. Hühnerembryo von 12^d Lauf (humerus) längs.
- Abb. 13. Hühnerembryo von 9^d längs, untere Partie des Rückens.
- Abb. 14. Hühnchenembryo von 14^d Lauf.
- Abb. 15. Amselembryo, obere Extremität.

Aus der k. k. dermatologischen Universitätsklinik der deutschen Universität
in Prag. (Vorstand Prof. C. Kreibich)

Der mikrochemische Nachweis der Peroxydase und Pseudoperoxydase in tierischen Geweben.

Von

Dr. Richard Fischel, Bad Hall.

Die seinerzeit mitgeteilte Methode des mikrochemischen Peroxydasenachweises mittels benzidinmonosulfosauren Natrons und H_2O_2 wurde durch die mit der Zeit zunehmende Unwirksamkeit des Präparates ungünstig beeinflusst. Da ich gezwungen war, durch längere Zeit meine Arbeit zu unterbrechen, suchte Kreibich ein konstant wirkendes Präparat zu erzielen, das sich aber schon dadurch wesentlich von dem meinigen unterschied, dass es mit diesem nicht gelang, die Zellkerne zur Reaktion zu bringen. So habe ich mich der Aufgabe unterzogen, an die Vervollkommnung der ersten von mir angegebenen Reaktion zu schreiten, zumal ein Präparat von der ursprünglichen Zusammensetzung, wie es seinerzeit vom Laboratorium Adler in Karlsbad geliefert wurde, nicht mehr zu beschaffen war.¹⁾

Über den histochemischen Nachweis der Peroxydase konnte ich in der Literatur keine Angaben finden, will man nicht den schüchternen Versuch Zuckerkandls, Colostrum und die Leukozyten des Harnsediments mit Guajakollösung und Wasserstoff-superoxyd zu färben, dafür gelten lassen.

Bezüglich der chemischen Literatur sei auf Batelli und Sterns erschöpfendes Referat in den Ergebnissen der Physiologie 1912 hingewiesen.

I. Methodisches.

Nach Rücksprache mit Herrn Dr. O. Adler, dem ich für seine freundliche Beratung zu grossem Danke verpflichtet bin, habe ich das Tolidin in Verwendung gezogen, das dem Benzidin mit einer Empfindlichkeitsgrenze von 0,001 ‰ auf Blut bezogen gegenüber, bloss mit 0,05, 0,25 ‰ in O. und P. Adlers Unter-

¹⁾ Die ausführliche Mitteilung ist aus diesem Grunde unterblieben.

suchungsreihe figuriert. Es handelt sich um das Ortho-Tolidin, also 4,4' Diamino- 3,3' Dimethyl-biphenyl.



Da es in Wasser schwer löslich ist, habe ich meine Versuche anfänglich mit einer Lösung: 0,1 Tolidin in 1 cm³ Alkohol und 9 cm³ Wasser begonnen, während Unna eine 1prozentige alkoholische Benzidinlösung zu seinen Versuchen verwendet.

Sehr bald aber konnte ich mich überzeugen, dass beim Kochen von Tolidin und Benzidin genügende Mengen in die wässrige Lösung übergehen, um mit H₂O₂ farbkraftige Peroxydasereaktionen zu geben. Mit wässrigen Benzidinlösungen ist ja Madelung der quantitative Nachweis der Peroxydase gelungen.

Man fügt zu 10 cm³ Wasser bzw. physiologischer Kochsalzlösung 0,01 gr Tolidin (bzw. Benzidin), kocht auf, filtriert und setzt dem Filtrat H₂O₂ (Merksches Perhydrol) in verschiedenen Verdünnungen zu.

Wir bereiteten gewöhnlich drei Konzentrationen:

- Nr. 1. 0,1 cm³ H₂O₂ werden mit 10 cm³ H₂O verdünnt, davon 0,01 cm³ in 10 cm³ Tolidinlösung gebracht, also 0,00003 gr H₂O₂ in 10 cm³ Tolidinlösung.
- Nr. 2. 0,01 cm³ H₂O₂ in 10 cm³ Tolidin, also 0,003 gr H₂O₂ in 10 cm³ Tolidinlösung.
- Nr. 3. 0,5 cm³ — 1 cm³ H₂O₂ in 10 cm³ Tolidin, also 0,15 bzw. 0,3 gr H₂O₂ in 10 cm³ Tolidinlösung, wobei die Variationen ja in den Protokollen vermerkt werden sollen. Die Lösung bleibt nach Zusatz schwacher H₂O₂-Konzentration farblos, erst nach Zusatz von 0,3 gr H₂O₂ bekommt sie nach kurzer Zeit einen gelblichen Stich.

II. Die Reaktion an feingranulierten Leukozyten.

Legt man einen lufttrockenen Aufstrich von Gonorrhoeiter in ein mit der Lösung 2 gefülltes Schälchen, so sieht man, wenn man unter dem Mikroskope bei schwacher Vergrößerung das Deckglas noch im Schälchen betrachtet, Blaufärbung der Kerne auftreten, dem sich nach einiger Zeit eine Braunfärbung des Leukozytenleibes (siehe später) anschliesst. Aufsteigende Gasperlen

versperren die Übersicht des Präparates. Die Reaktionsflüssigkeit bleibt vollständig farblos.

Versuch I.

Gonorrhoeedekglas-aufstrich, lufttrocken, wird mit folgenden Lösungen beschickt:

- | | | |
|---|---|---|
| a) Zur heiss gesättigten Tolidinlösung (s. oben) 10 cm ³ | wird die obige H ₂ O ₂ -Verdünnung Nr. 1 zugefügt | Keine O-entwicklung. Makroskopisch: blassblaue Färbung. Mikroskopisch: Granula blassbräunliche Färbung angedeutet. ¹⁾ |
| b) Zur heiss gesättigten Tolidinlösung (s. oben) 10 cm ³ | wird H ₂ O ₂ -Konzentration zugefügt Nr. 2 | Mässige O-entwicklung. Makroskopisch erscheint der Aufstrich blau. Mikroskopisch: Flüchtige, rasch vorübergehende Färbung der Kerne, Braunfärbung der Granula, Intergranularsubstanz ungefärbt. |
| c) Zur heiss gesättigten Tolidinlösung (s. oben) 10 cm ³ | wird H ₂ O ₂ 0,2 cm ³ zugefügt Nr. 3 | Sehr starke Gasblasenentwicklung. Makroskopisch nicht intensiver als b gefärbt. Mikroskopisch durchwegs wesentlich schwächere Färbung als bei b. |

Im histologischen Bilde stehen die braunen Granula zu den blauen Kernen in schönem Kontrast. Doch dauert die Kernfärbung nicht länger als 15 Minuten an, während die Braunfärbung der Granula, wenn das Präparat vor Austrocknung geschützt wird, sich noch nach Stunden nachweisen lässt.

Immer geht die Färbung der Kerne der der Granula voraus. Was die Stärke der Farbe betrifft, so zeigt sich bei b ein Optimum, bei a und c, also bei schwächerer und stärkerer Wasserstoffsuperoxydkonzentration, eine Abschwächung der Farbintensität.

Die Schnelligkeit des Eintritts der Reaktion lässt sich schwierig ermitteln, da die durch die Katalase reichlich entwickelten Gasblasen und der durch sie gebildete Schaumüberzug eine genaue Beobachtung verhindern (bei b und c). Mit Be-

¹⁾ Ob nicht eine flüchtige Färbung der Kerne stattgefunden hat, kann ich nicht ausschliessen.

stimmtheit lässt sich aber konstatieren, dass bei b die Reaktion rascher eintritt als bei a.

Die untere Grenze der H_2O_2 -Verdünnung, bei der sich noch eine positive Reaktion erzielen lässt, haben wir in einem Falle unternommen.

Versuch II.

Zur 5 cm^3 gesättigten wässrigen Tolidinlösung 3 Millionstel Gramm H_2O_2 -Zusatz ergab einen positiven Erfolg, 300 Millionstel Gramm H_2O_2 -Zusatz einen negativen Erfolg.

Die Lösung des Tolidins ist auf Lackmus und Phenolphthalein ohne Einwirkung; chemisch hat es basischen Charakter, da es mit Säuren Salze bildet. Es gibt nun Präparate, die auf Zusatz von H_2O_2 in schwächster Verdünnung Nr. 1 nicht reagierten, bei Zusatz eines Tropfens Oxalsäure ins Schälchen sofort blaue Kernreaktion geben.

Versuch III.

Systematisch ausgeführte Versuche ergaben:

- | | | |
|---|-------------------------------------|--|
| a) Zu 10 cm^3 einer gesättigten wässrigen Tolidinlösung, der $0,01\text{ cm}^3\text{ H}_2\text{O}_2$ zugefügt sind | Oxalsäure
n/10 $0,1\text{ cm}^3$ | Kerne der fein granulierten Leukozyten blau, viel länger beständig als ohne Säurezusatz, Granula gelblich bis braun, in der einzelnen Zelle von verschiedener Intensität. In den Epithelzellen Chromatin und Kernkörperchen blau, Plasma blau. |
| b) Zu 10 cm^3 einer gesättigten wässrigen Tolidinlösung, der $0,01\text{ cm}^3\text{ H}_2\text{O}_2$ zugefügt sind | Oxalsäure
n 10 1 cm^3 | Kerne blau, Plasma und Granula nicht gefärbt. Kerne nach ca. 5 Minuten entfärbt. |
| c) Zu 10 cm^3 einer gesättigten wässrigen Tolidinlösung, der $0,01\text{ cm}^3\text{ H}_2\text{O}_2$ zugefügt sind | ohne
Oxalsäurezusatz | In den fein granulierten Leukozyten blaue Kerne, rasch sich blauend, Granula braun, stärker braun als bei a. |

Die Reaktionsflüssigkeit ist bei a und c nicht gefärbt, bei b tritt eine Spur von Blaufärbung auf, die aber mit der Intensität der Kernfärbung nicht vergleichbar ist.

Schon in meiner ersten Mitteilung hatte ich darauf hingewiesen, dass das Einblasen von Atemluft in die Reaktionsflüssigkeit (benzidin-monosulfosaurem Na) eine wesentliche Verstärkung der Farbtintensität ergab.

Versuch IVA.

Tolidin gesättigte wässrige Lösung + H_2O_2 - Konzentration Nr. 1	In das Schälchen Atemluft eingeblasen.	Färbung sehr flüchtig.
Tolidin gesättigte wässrige Lösung + H_2O_2 - Konzentration Nr. 1	Kontrolle: ohne Durchblasen von Atemluft.	farblos negativ.

Madelung konnte zeigen, dass das unter CO_2 -Einleiten ausgefällte Benzidinblau ziemlich genau die doppelte Menge dessen beträgt, das ohne CO_2 -Einleiten ausfällt, so dass wir uns veranlasst sehen, aus einer Flasche $(CaCO_3 + HCl)$ CO_2 in die Flüssigkeit einzuleiten.

Versuch IVB.

a) Tolidin gesättigte wässrige Lösung	ohne CO_2	Leukozytengranula braun, Kerne nicht gefärbt.
dazu H_2O_2 - Konzentration Nr. 1.	CO_2 1 Minute durchgeleitet	Kerne blau, Leukozytengranula braun.
	CO_2 5 Minuten durchgeleitet	Kerne intensiv blau, Plasma der Leukozyten schwach bläulich, Schleimfäden blau.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, dass ein mässiger Säurezusatz (Oxalsäure bzw. CO_2) die besten Resultate gibt. Blaufärbung der Kerne, Braunfärbung der Granula. Bei neutraler Lösung färben sich bloss die Granula (eventuell die Kerne sehr flüchtig), bei grösseren Säuremengen bloss die Kerne blau, zuweilen auch das Plasma der Leukozyten diffus.

Es ist klar, dass dem CO_2 -Zusatz die genaue quantitative Abmessung abgeht, doch lernt man sehr bald die Zeit kennen, um die entsprechenden kleinen Mengen zur blossen Ansäuerung für Kern- und Granulareaktion, die grösseren Mengen zur Erzielung blosser Kern- eventuell Plasmareaktion abschätzen zu können.

Versuch V.

a) Zur 10 cm ³ gesättigten wässrigen Tolidinlös. + H_2O_2 0,01	Zusatz von n/40 NaOH 0,1	Bloss Braunfärbung der Granula. Kerne ungefärbt.
b) Zur 10 cm ³ gesättigten wässrigen Tolidinlös. + H_2O_2 0,01	Zusatz von n/40 NaOH 0,3	Granula goldbraun. Kerne ungefärbt. Nachfärbung mit Methylenazur: Kerne hellviolet, Gran. grünlichbraun.

Weiterer Alkalizusatz verhindert die Kernfärbung vollständig. Kontrollversuche mit Tolidin bzw. Benzidinlösung mit und ohne

Säurezusatz ergeben, dass die darin befindlichen Gewebsaufstriche sich nicht verändern, ebenso zeigt das System Tolidinlösung + H_2O_2 + CO_2

oder $\left\{ \begin{array}{l} COOH \\ COOH \end{array} \right.$ auch nach 24stündigem Stehen je nach dem Ausgangspräparat höchstens einen leicht gelblichen oder violetten Stich.

Es handelt sich also sicher um eine Reaktion, die durch Hinzufügung des H_2O_2 zur Tolidinlösung + Gewebe hervorgerufen wird, durch eine Oxydation des Tolidins durch aktiven Sauerstoff um den Nachweis einer Peroxydase.

Es war nun natürlich geboten, den Einfluss hoher Temperaturen auf dieses endozelluläre Ferment¹⁾ zu studieren, um so mehr als ja Winkler für die Oxydase der Leukozytengranula, ich für die Peroxydase, den Nachweis erbracht habe, dass Kochen der Präparate die Wirksamkeit der Enzyme zerstört.

Versuch VI.

Gonorrhoeetrockenaufstrich: $\frac{1}{4}$ Stunde in kochendem Wasser belassen.

- | | | |
|---|--|--|
| a) Zur 10 cm ³ gesättigten Tolidinlösung wässrig | 0,05 cm ³ einer Lösung von 0,01 H_2O_2 zu 10,0 Aqua dest. | Keine Färbung trotz Hinzufügung zweier Tropfen n/40 Oxalsäure. |
| b) Zur 10 cm ³ gesättigten Tolidinlösung wässrig | H_2O_2 0,01 cm ³ . | Keine Färbung trotz CO_2 -Durchleitung. |
| c) Zur 10 cm ³ gesättigten Tolidinlösung wässrig | 0,2 cm ³ H_2O_2 | + Bloss die Kerne gefärbt. Granula vollständig ungefärbt |

Da die Katalase durch 100° vernichtet wird, keine Gasblasenentwicklung. Während also in diesem Falle erst bei c Kernfärbung eintrat, verfügen wir über Präparate, bei denen a versagte, aber Konzentration b schon positive Reaktion ergab.

Aus dem Versuche ergibt sich, dass die Granulaperoxydase durch Kochen vernichtet wird, die Kernperoxydase widersteht, aber höherer H_2O_2 -Konzentrationen zur Hervorrufung der Reaktion bedarf.

¹⁾ Der Ausdruck endozelluläre Enzyme oder Fermente wird in der Arbeit angewendet, ohne dass damit eine Stellungnahme für oder gegen die Fermentnatur genommen wird.

Versuch VII.

Trockene Erhitzung: Die Deckglasaufstriche werden durch 20 Minuten auf 110—120° im Trockenkasten erhitzt.

- | | | |
|--|---|--|
| a) Zu 10 cm ³ gesättigter wässriger Tolidinlös. werden zugefügt | 0,05 cm ³ einer Verdünnung von 0,01 cm ³ H ₂ O ₂ zu 10 cm ³ H ₂ O | Reaktion negativ. |
| b) Zu 10 cm ³ gesättigter wässriger Tolidinlös. werden zugefügt | 0,01 cm ³ H ₂ O ₂ | Prachtvolle Blaufärbung der Kerne im ganzen Präparat. Keine Granulafärbung. |
| c) Zu 10 cm ³ gesättigter wässriger Tolidinlös. werden zugefügt | 0,15 cm ³ H ₂ O ₂ | Kerne sowohl der Leukozyten als Epithelien prachtvoll blau. Gonococcen blau. |

Doch haben wir eine grosse Zahl von Präparaten beobachtet, bei denen trockene Hitze unter obengenannten Bedingungen die Granulaperoxydase nicht vollständig zerstörte.

Versuch VIII.

Gonorrhoeedekglasaufstrich. Erhitzung auf 170° durch $\frac{1}{4}$ Stunde.

- | | | |
|---|--|---|
| Zu gesättigter wässriger Tolidinlösung 10 cm ³ | H ₂ O ₂ 0,01 cm ³ | Deutliche Färbung der Leukozytenkerne. Granula ungefärbt; rote Blutkörperchen im Präparat sehr spärlich, grünlich gefärbt, in ihrer Umgebung die Leukozytenkerne stärker gefärbt. |
| Zu gesättigter wässriger Tolidinlösung 10 cm ³ | H ₂ O ₂ 0,2 cm ³ | Verstärkung der Färbung durch einige Tropfen n/40 Oxalsäure. Keine Färbung der Leukozytenkerne, dagegen die spärlichen roten Blutkörperchen grünlichgelb, und in der nächsten Umgebung die Leukozytenkerne blau (ca. 3—4 umliegende Leukozyten betreffend). |

Erhitzung der Aufstrichpräparate auf 180° durch eine halbe Stunde ergab vollständige Reaktionslosigkeit der Kerne, also Vernichtung der Peroxydase. Die roten Blutkörperchen aber reagieren noch deutlich durch Farbenumschlag. Aus diesen Versuchen folgt, dass trockene Erhitzung erst bei Temperaturen von über 120° die Granulaperoxydase abtötet, die Kernperoxydase

erst bei 180° bei halbstündiger Erhitzung, während die Hämoglobinperoxydase selbst dieser Temperatureinwirkung gegenüber sich resistent erweist.

Da nun die Hb-Peroxydase aus diesem Grunde von Buckmaster als Pseudoperoxydase bezeichnet wird, so möchte ich für die Kernperoxydase den gleichen Namen in Beschlag nehmen, zum Unterschied von der thermolabilen Granulaperoxydase. Darüber wird übrigens noch später im Zusammenhange gesprochen werden.

Aus Versuch VIII geht aber noch hervor, dass auch nach Zerstörung der Katalase ein Optimum der H_2O_2 -Konzentration für die Kernreaktion besteht, da bei 0,2 cm^3 H_2O_2 Zusatz die Reaktion nicht mehr zustande kommt. Bei 0,01 cm^3 H_2O_2 zu 10,0 Tolidinlösung Blaufärbung der Kerne eintritt.

Ich habe unter ganz gleichen Bedingungen die Tolidin-Versuche mit Benzidin wiederholt, mit dem Kahlbaumschen Präparat, das für Blutuntersuchungen verwendet wird und sich durch chemische Reinheit auszeichnet.

Versuch IX.

a) Gesättigte wäss. Lösungv. Benzidin Kahlbaum 10 cm^3 dazu	0,05 cm^3 einer Verdünnung von 0,01 cm^3 H_2O_2 zu 10 cm^3 Wasser dazu	n/10 Oxal- säure 1 Tropfen	Ein Teil der polymorphen Leukozyten zeigt blaue Granula, ein Teil braune, ein Teil braune und blaue Granula in einer Zelle. Kern nicht gefärbt.
b) Gesättigte wäss. Lösungv. Benzidin Kahlbaum 10 cm^3 dazu	0,01 cm^3 H_2O_2	n/10 Oxal- säure 1 Tropfen	Blaue Kerne, braune Gra- nula, sehr distinkt.
c) Gesättigte wäss. Lösungv. Benzidin Kahlbaum 10 cm^3 dazu	0,2 cm^3 H_2O_2	n/10 Oxal- säure 1 Tropfen	Wesentlich schwächere Fär- bung der Kerne und Granula. Kernfärbung sehr flüchtig.

Während wir in den lufttrockenen Tolidinpräparaten die Granula braun gefärbt fanden, fiel uns hier das gleichzeitige Vorkommen von braun- und blaugranulierten Gruppen und Zellen mit gemischtfarbigen Granulis auf, doch liess sich die Blaufärbung der Granula auch nicht in allen Präparaten erhalten, es

gab, Präparate die den Tolidinpräparaten vollständig glichen. Nach Madelung kann das Benzidinblau nur bei saurerer Reaktion des Mediums bestehen, so dass am Ende die Azidität oder Basizität der Gewebe als die Ursache für die Verschiedenheit der Granulafärbung angesehen werden konnte. Weitere Untersuchungen müssen hier Klarheit schaffen. Möglicherweise handelt es sich um die Bildung des braunen Dichlorimids (Madelung, S. 212).

Im allgemeinen hatte ich den Eindruck, dass die Benzidinpräparate farbschwächer sind als die Tolidinpräparate, was sich wahrscheinlich aus der besseren Löslichkeit des Tolidins in Wasser erklärt.

Die Widerstandsfähigkeit gegen Gifte habe ich an Leukozyten nicht geprüft und nur vom praktischen Standpunkt aus die Fixation in Alkohol, Formalin und Osmiumsäure mit befriedigendem Erfolg versucht. Äther-Alkohol und das lipoidlösende Aceton liess ich auf die lufttrockenen Aufstriche eine Stunde, bzw. letzteres mehrere Stunden, einwirken, ohne dass die Reaktion eine merkliche Einbusse erlitten hätte. Vielleicht lässt sich durch Verfolgung des mikrochemischen Weges die Vernonsche Theorie von dem innigen Zusammenhalt der Oxygenase und der Peroxydaseenzyme genauer erforschen.

Versuch X.

Fixation in absol. Alkohol durch 1 Stunde.

Gonorrhoeaufstrich.

Ges. Tolidinlösung	0,01 cm ³ H ₂ O ₂	+ 1 Tr. n ¹⁰	Kerne blau, Granula braun.
10 cm ³		Oxalsäure	Gonococcen blau, Lymphocyten: Kern und Leib blau.
dazu			
Ges. Tolidinlösung	0,2 cm ³ H ₂ O ₂	+ 1 Tr. n ¹⁰	Färbung der Kerne viel
10 cm ³		Oxalsäure	schwächer.
dazu			

Formalinfixation. Fixiert wurde mittels Formalindämpfen $\frac{1}{4}$ –8 Stunden lang. Danach wurden die Präparate noch einige Stunden an der Luft belassen, da sofortige Reaktionsvornahme oft schwächere Farbresultate ergab.

Die Granula erscheinen blassgelb, die Kerne blassblau. Die Granula der eosinophilen färben sich dunkler (wie bei allen bisherigen Reaktionen am lufttrockenen Aufstrich). Kerne der Epithelien blau, Verstärkung der Färbung durch Hinzufügung von 1 Tropfen Oxalsäure.

Schon in der ersten Arbeit habe ich darauf hingewiesen, dass schwache Säuerung des Alkohols für die Reaktion von Vorteil ist.

Der braune Farbstoff der Granula ist in absolutem Alkohol selbst bei 12stündigem Aufenthalte nicht löslich, sei es, dass Lufttrocknung, sei es, dass Formalinfixation vorausgegangen war.

Nach Verschwinden der Kernbläuung kann ein neuerliches Eintragen in die Reaktionsflüssigkeit dieselbe wieder hervorrufen.

Buboeiter habe ich nur in einem Falle untersucht. Die Granula der Eiterkörperchen zeigten abgeschwächte Reaktion, die Kerne waren entweder blassblau oder bräunlich. Letztere Beobachtung haben wir an frischem Gonorrhoeeiter nie gemacht.

III. Blut.

Froschblutaufstrich in Formalindämpfen durch 16 Stunden fixiert.

- | | | |
|--|--|--|
| a) Gesättigte wässrige
Tolidinlösung 10 cm ³
dazu | 0,1 cm ³
einer Verdünnung
von 0,01 cm ³ H ₂ O ₂ auf
10 cm ³ H ₂ O | Keine deutliche Reaktion
weder am Zelleib noch
an den Kernen. |
| b) Gesättigte wässrige
Tolidinlösung 10 cm ³
dazu | 0,01 cm ³ H ₂ O ₂ | Blaufärbung des Kern-
chromatins. Hb. grünlich-
gelb. |
| c) Gesättigte wässrige
Tolidinlösung 10 cm ³
dazu | 0,15 cm ³ H ₂ O ₂ | Reaktion die gleiche wie
in b, auch nach 5 Minuten
bleiben die roten Blut-
körperchen intakt. |

Die überstehende Flüssigkeit in a, b und c nicht gefärbt.
Mehrere Tage alte Trockenpräparate werden durch 1 Stunde auf 130° erhitzt.

- | | | |
|---|--|--|
| a) Ges. wässrige
Tolidinlösung
10 cm ³
dazu | 0,01 cm ³ H ₂ O ₂ | Hb. hat einen bräunlichen
Stich, der Kern nicht
gefärbt. |
| b) Ges. wässrige
Tolidinlösung
10 cm ³
dazu | 0,01 cm ³ H ₂ O ₂ $\frac{1}{10}$ n 10
Oxalsäure
0,1 cm ³ | Blaufärbung der Kerne und
des Hb. |
| c) Ges. wässrige
Tolidinlösung
10 cm ³
dazu | 0,01 cm ³ H ₂ O ₂ $\frac{1}{10}$ n 10
Oxalsäure
1,0 cm ³ | An einzelnen Stellen noch
intensivere Färbung als
bei b, Präparate können
aber nur Sekunden in
der Flüssigkeit belassen
werden, da Tolidinblau
in Lösung geht. |

Es ergibt sich also aus Versuch XI, dass Kerne (Kernchromatin) und Hb. erst bei einer höheren Wasserstoffsuperoxydkonzentration Peroxydasereaktion geben als die Leukozytengranula, gegen eine Temperatureinwirkung von 130° resistent sind. Oxalsäure in geringer Menge die P.-Reaktion verstärkt, dass aber bei stärkerem Oxalsäure-Zusatz Tolidinblau in Lösung geht.

Versuch XII.

Menschenblutaufstrich über Nacht Formalindämpfen ausgesetzt.

a) Gesättigte wässrige Tolidinlösung 10 cm ³ dazu	0,1 cm ³ einer Verdünnung von 0,01 cm ³ H ₂ O ₂ zu 10,0 Wasser	Die Flüssigkeit bleibt unverändert, nicht gefärbt. Rote Blutkörperchen zeigen höchstens einen Stich ins Grünliche. Die weissen Blutkörperchen zeigen Blaufärbung der Kerne.
b) Gesättigte wässrige Tolidinlösung 10 cm ³ dazu	0,01 cm ³ H ₂ O ₂	Schon makroskopisch in kurzer Zeit grün. Nach längerer Zeit nimmt die über dem Aufstrich stehende Flüssigkeit einen grünlichen Stich an.
c) Gesättigte wässrige Tolidinlösung 10 cm ³ dazu	0,15 cm ³ H ₂ O ₂	Rote Blutkörperchen grün, Kerne der weissen Blutkörperchen blau. Stärkere O-Entwicklung. Es treten blaue Niederschläge im Präparate auf, Kerne der Leukozyten blau.

Man sieht also, dass bei schwächster Konzentration des H₂O₂ keine oder eine minimale Reaktion des Hb. eintritt, und erst bei stärkerer Konzentration (in unserem Falle bei 0,01 zu 10,0 T.) die roten Blutkörperchen mit Grünfärbung reagieren. Mit Zunahme der H₂O₂-Konzentration kommt es zu einer Lösung des Oxydationsproduktes des Tolidins und des Hb. Die Kerne der weissen Blutkörperchen reagieren bereits bei Nr. 1, also der stärksten H₂O₂-Verdünnung. Als Resultat mehrfacher Untersuchungen kann ich mitteilen, dass auch die Granula der Leukozyten sich in vielen Fällen bräunlich färben, zuweilen auch blau, dass die Kernfärbung vergänglich war, so dass manchmal schon bei dem Wechsel der Linsen von schwacher Vergrößerung zur Immersionslinse die Färbung verschwunden war.

Warum sich aber in dem einzelnen Fall die Granula färben, im anderen (wie im beigegebenen Protokoll) dies nicht der Fall ist, kann ich vorläufig nicht erklären.

Die Resultate mit Osmiumdampf fixation ähneln im grossen und ganzen den mit Formalindämpfen erhaltenen.

Neuerliche Versuche bestätigen die Widerstandsfähigkeit des Hb. hohen Temperaturen gegenüber, wie es in Versuch VIII ja schon einwandsfrei erwiesen wurde. 150° — 160° erhitzte Blut-aufstriche (leider ist die Dauer der Erhitzung nicht notiert) liessen die Kernreaktion der weissen Blutkörperchen vermissen, die roten Blutkörperchen zeigten diese in unverändertem Maße.

Auffallend rasch tritt insbesondere bei grösseren Dosen von H_2O_2 ein Braunwerden der Erythrozyten auf. (Über die Veränderungen des Benzidinblaus siehe Madelung, S. 212.)

Bisher war immer nur von Aufstrichen, die meist 24 Stunden lufttrocken blieben, die Rede; es musste noch der Einfluss der Reaktion auf das supravitale Gewebe festgestellt werden.

Das Trippersekret wurde direkt aus der Harnröhre des Kranken (unbehandelte akute Gonorrhoe) mittels einer Platinöse auf ein Deckglas gebracht, rasch fein verteilt, mit der Reaktionsflüssigkeit gemengt und im hohl geschliffenen Objektträger untersucht.

Versuch XIII.

Gesättigte Tolidinlösung	1—2 Tropfen	Makroskopisch sofortiges Blau-
in phys. NaCl-Lösung	von einer	werden des Aufstriches.
0,9 %	Verdünnung	Kerne der Leukozyten blau. Gra-
dazu	von 0,10 cm ³	nula braun. An den Epithelien
	Perhydrol zu	die Kernkörperchen intensiv
	10 cm ³ H_2O_2	blau, Kerne leicht bläulich.
		Plasma nicht gefärbt. Ein-
		schlüsse im Plasma
		derselben braun.

Nach einem halbstündigen Aufenthalt im Brutschrank waren die Kerne entfärbt, die L.-Granula noch braun.

Viel schwieriger gestaltet sich die Methode im frischen Blute. Man muss hier, um die weissen Blutelemente zur Reaktion zu bringen, mit dem H_2O_2 -Zusatz sehr vorsichtig sein (0,1 cm³ H_2O_2 auf 10,0 phys. NaCl-Lösung, davon 0,01 zu 10 cm³ Tolidinlösung in phys. NaCl).

Die roten Blutkörperchen blieben in dieser Lösung längere Zeit unverändert, allerdings konnte ich weder an den Leukozyten

noch an den Blutplättchen irgend welche Färbungserscheinungen wahrnehmen. Die Granula der polymorphkernigen Leukozyten fanden sich in lebhafter Bewegung.

Die Versuche werden übrigens systematisch angestellt werden.

Es fällt hier der Unterschied zwischen dem sofortigen Gelingen der Probe im Trippereiter, das Misslingen im Blute auf. Möglicherweise waren die Zellen im Trippereiter bereits abgestorben oder im Absterben begriffen, die Zellen des Blutes noch in voller Vitalität, vielleicht liegt es an der ungleichmässigen Mischung im zweiten Falle. Es ist vorläufig unmöglich alle in Betracht kommenden Momente anzuführen.

Bei der Wiederholung der Versuche soll alkoholische Tolidinlösung auf das Deckglas gestrichen, nach dem Verdunsten mit Blut beschickt und die entsprechende Verdünnung von H_2O_2 in phys. NaCl-Lösung hinzugefügt werden.

Als wichtiges Ergebnis möchte ich auf die Braunfärbung der Epithelzelleinschlüsse neben Blaufärbung des Kernes bei Gonorrhoeaufstrichen hinweisen.

Von pathologischen Blutbefunden standen mir nur einige Deckglaspräparate vom Blute eines Leukaemikers zur Verfügung. Die positive Reaktion lässt die Brauchbarkeit der Methode erkennen.

Um Wiederholungen zu vermeiden, sei bloss über die eingetretene Braunfärbung der Granula der neutrophilen Leukozyten, der Myelozyten, Dunkelbraunfärbung der eosinophilen Körnelung berichtet. Nach CO_2 -Durchleitung die entsprechenden Befunde. Interessant war es, dass nach 24 stündiger Formalinfixation (Tolidin mit schwacher CO_2 -Durchleitung) Blaufärbung der Granula auftrat.

Möglich, dass die Blaufärbung der Granula nach Formalinfixation darauf zurückzuführen ist, dass durch die in den Granulis vorhandene Peroxydase Formaldehyd in Ameisensäure übergeführt wird, die saure Reaktion die Bildung des Tolidinblaus bedingt.

IV. Gewebsaufstriche: Milz, Leber.

Die in meiner seinerzeitigen Mitteilung zur Kenntnis gebrachten Resultate waren durchwegs an Gewebsaufstrichen gemacht worden.

Bei den ungranulierten Leukozyten (Lymphozyten) zeigte sich um den Zellkern ein olivgrüner Ring, der als Peroxydase-reaktion des Zelleibs angesprochen werden musste und zum Unterschied von der Granulaperoxydase der feingranulierten Leukozyten erst bei einer höheren H_2O_2 -Konzentration mit dem damals in Verwendung stehenden benzidinmonosulfosauerem Na eintrat.

Auch die neue Tolidinreaktion hat die Bestätigung der oben erwähnten Befunde gebracht, zu denen sich noch eine positive Kernreaktion gesellte, die sich auf das Kernchromatin lokalisierte, indem die Leibeshülle bald nur einige blaue Chromatinbröckelchen, bald ein dichtes Gewirre blauer Aggregate umgibt.

Versuch XIV.

Meerschweinchenmilz: Trockenaufstrich.¹⁾

Gesättigte Tolidinlösung in phys. NaCl-Lösung 10 cm ³	0,1 cm ³ einer Verdünnung von	Leukozytengranula blau. Kern nicht gefärbt. Lymphozyten
dazu	0,02 cm ³ H_2O_2 zu 10 cm ³ Wasser	nicht gefärbt. Rote Blut- körperchen nicht gefärbt.
Gesättigte Tolidinlösung in phys. NaCl-Lösung 10 cm ³	0,01 cm ³ H_2O_2	Lymphozytenleib und Kern blau, rote Blutkörperchen teilweise bereits blau.
dazu		

Durch die Lösungen wurde weniger als 1 Minute in langsamem Strom CO_2 durchgeleitet.

Versuch XV A.

Leberaufstrich von einer weissen Maus.

- a) Supravital sofort nach der Tötung; trotz verschiedener H_2O_2 -Konzentrationen, kürzerer oder längerer CO_2 -Durchströmung. Reaktion durchaus negativ.
- β) Dieselben Aufstriche durch 24 Stunden lufttrocken. Reaktionsflüssigkeiten: unter gleichen Bedingungen wie oben. Reaktion durchaus negativ.
- γ) In Formalindämpfen durch 24 Stunden fixierte Präparate. Mit den gleichen Reaktionsflüssigkeiten wie bei β behandelt. Reaktion durchaus negativ.

Versuch XV B.

Leberaufstrich einer weissen Maus.

- a) Gleich post mortem supravital. Mit denselben Flüssigkeitskonzentrationen wie bei XV A. .. Reaktion durchaus negativ.
- β) Gefrierschnitte sofort angefertigt. In einem grossen Teil der Läppchen die Leberzellkerne blau. Reaktion positiv.

¹⁾ Die Schnittfläche der Milz bzw. Leber wird über den Objektträger gestrichen, der Aufstrich durch 24 Stunden an der Luft getrocknet.

- 7) Trockenaufstrich sofort in siedendes Wasser durch eine Minute eingetragen. Reaktion durchaus negativ.
- 8) Nachmittags der Trockenaufstrich in siedendes Wasser eingetragen. Prachtvolle Blaufärbung der Leberzellenkerne, distinkt sich vom ungefärbten Plasma abhebend. Reaktion durchaus positiv.

In den Protokollen meiner ersten Mitteilung fand ich bereits die auffallende Tatsache, dass sich Leber verschiedener Herkunft der Reaktion gegenüber bald positiv, bald negativ verhält.

Mir scheinen die Befunde von grosser Wichtigkeit, weil sie beweisen, dass aus einer negativen Peroxydasereaktion nicht auf das Fehlen von Peroxydase geschlossen werden darf. Man könnte die Katalase, die ja in der Leber so ausserordentlich reichlich vorhanden ist, als Grund für die Reaktionshemmung ansehen, weil der gekochte Leberaufstrich positiv reagierte. Da aber Gefrierschnitte des frischen Organs, die Katalase durch die reichliche Gasentwicklung erkennen lassen, blaue Kernfärbung zeigten, so werden andere Momente, die uns vorläufig unbekannt sind, für das Versagen verantwortlich zu machen sein.

In den Protokollen der ersten Arbeit ist über den positiven Ausfall der Reaktion an dem Leberaufstrich eines 3 cm langen Schweinsembryos berichtet.

Zu 0,5 cm³ wässriger Lösung von monobenzidinsulfosauerem Na wurden 0,5 cm³ einer 3⁰/₁₀ H₂O₂-Lösung zugefügt. Die Kerne der Leberzellen färbten sich blau, während das Chromatin der roten Blutkörperchen versagte.

Also schon im embryonalen Leben lässt sich in den Zellkernen Pseudoperoxydase nachweisen.

V. Gefrierschnitte.

Um die Gewebe in ihrem natürlichen Zusammenhang zu studieren, wurden anfänglich Gefrierschnitte von Organen eben getöteter Tiere angefertigt. Da es sich bald herausstellte, dass auch 48stündige Konservierung (auf Eis) der Reaktion keinen Eintrag machte, wurden auch Gewebsstücke 48 Stunden post mortem verwendet.

Unna rät für seine Rongalitweissreaktion die Organe, um sie schnittfähiger zu gestalten, für kurze Zeit in destilliertes Wasser zu legen. Ich habe dies nur ausnahmsweise getan, da ich einen Verlust von Peroxydase fürchtete.

Ausserdem wurden Gewebstückchen 8—48 Stunden in 5—10 % Formalinlösung fixiert und dann geschnitten.

Um uns über die Hitzebeständigkeit der Peroxydase zu überzeugen, haben wir Organstückchen gekocht, dann vereist und in Schnitte zerlegt. Ich kann das Verfahren als vorbereitende Operation für Anfertigung von Gefrierschnitten überhaupt aufs beste empfehlen. Die Organe sind fast so gut oder so gut schneidbar als nach Formalinfixation und nehmen Farbe ungleich besser auf als formalinfixiertes Gewebe.

Um alle äusseren Einflüsse auszuschalten, die die Eindeutigkeit des Resultates hätten gefährden können, wurde der Gefrierschnitt anfänglich (Organe frisch getöteter Tiere) mit Glasnadeln (Eisenreaktion) direkt vom Mikrotommesser in das Schälchen mit Reaktionsflüssigkeit gebracht. Das Resultat wird aber nicht beeinflusst, wenn man ihn mit gewöhnlichen Stahlnadeln behandelt und in dest. Wasser oder phys. NaCl-Lösung sich ausbreiten lässt.

Die Schnitte können bei schwacher Vergrösserung im Schälchen in der Reaktionsflüssigkeit mikroskopiert werden. Zur Beobachtung mit starken Vergrösserungen werden sie auf einen Objektträger nach kurzem Abspülen mit dest. Wasser oder phys. NaCl-Lösung (blosses Durchziehen) gebracht.

Wir haben oft in einem Tropfen der Reaktionsflüssigkeit selbst untersucht und nur ausnahmsweise eine Färbung derselben, wenn sie nach 10 Minuten mit Filtrierpapier abgetupft wurde, konstatieren können.

Über Unnas Methode der Celloidineinbettung der Gefrierschnitte besitze ich keine Erfahrung.

Versuch XVII.

Niere, Meerschweinchen. Vormittag durch Entblutung getötet. Mittag auf Eis. Nachmittag 5 Uhr geschnitten.

- | | | |
|-----------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| a) Tolidin gesättigte | 0,02 cm ³ einer | Schnitt langsam an einzelnen |
| wässrige Lösung | Verdünnung | punktförmigen Stellen der Rinde |
| 10 cm ³ | von 0,2 cm ³ | sich bläuernd. |
| dazu | H ₂ O ₂ zu | Im Schälchen mikroskopiert: Bloss |
| | 10 cm ³ H ₂ O | die Glomerulusepithelien gefärbt, |
| | | so dass die Glomeruli als blaue |
| | | Kreise aus dem übrigen ungefärbten |
| | | Gewebe heraustreten. |

- | | | |
|---|--|--|
| b) Tolidin gesättigte wässrige Lösung
10 cm ³
dazu | 0,25 cm ³ einer Verdünnung von 0,2 cm ³ H ₂ O ₂ zu 10 cm ³ H ₂ O | Der eingetragene Schnitt wird sofort gebläut. Kerne der geraden Harnkanälchen blau, auch in ihren Rindenanteilen. Kerne der gewundenen Harnkanälchen schwächer blau, das Plasma derselben bräunt sich allmählich. Erst mehrere Minuten, nachdem der Schnitt seine intensivste Färbung angenommen hat, fängt die Flüssigkeit an sich leicht blau zu färben. |
| c) Tolidin gesättigte wässrige Lösung
10 cm ³
dazu | 0,3 cm ³ H ₂ O ₂ | Unter starker O-Entwicklung Bläue des Schnittes wie bei b. Keine stärkere Färbung. Wegen der aus Luftblasen bestehenden ihn überdeckenden Schaumlage ist die Untersuchung der Details des Schnittes sehr erschwert. |

Versuch XVII B.

Ein Teil der Niere von XVI A in kochendes Wasser eingetragen, durch $\frac{1}{4}$ Stunde darin belassen. Die Reaktionsflüssigkeiten wie bei XVI A, a, b und c.

- a) Viel später als im vorhergehenden Versuch färben sich die Glomerulusepithelien, einzelne Bindegewebs- und Endothelzellen.
- b) Färbung der Kerne der geraden Harnkanälchen. Bräunliche Färbung der roten Blutkörperchen.
- c) Prachtvolle Färbung der Kerne der geraden Harnkanälchen, schwächere der gewundenen. Bräunliche Färbung der roten Blutkörperchen. Die Reaktion geht ohne jede Gasentwicklung vor sich. Die Flüssigkeit bleibt während der ganzen Zeit der Reaktion vollständig ungefärbt. Selbst $\frac{3}{4}$ stündiges Kochen hat keine Abschwächung der Reaktion zur Folge.

Versuch XVI C.

Ein Stückchen der Niere von A und B durch 4 Stunden in 10% Formalin.

- a) Färbung wie bei A.
- b) " " " A.
- c) Am stärksten gefärbt, rote Blutkörperchen braun, Glomeruluskerne blau. An den Epithelien der geraden Harnkanälchen sind Kerne und Plasma schwach gefärbt. Die Färbung hat einen diffusen Charakter, nicht so distinkt wie in den gekochten Präparaten. O-Entwicklung geringer als bei A.

Die gleichen Resultate erhielt ich an Maus- und Kaninchen-niere. Besonders instruktiv an ersterer, wo sich Übersichtsschnitte

sehr leicht gewinnen lassen und wo bei mittlerer H_2O_2 -Konzentration sich zuerst und intensiv das Mark färbt, später erst die Rinde. Aus diesen Versuchen ergibt sich: Selbst $\frac{3}{4}$ stündiges Kochen vernichtet die Kernreaktion nicht, ja hat sogar keine Abschwächung derselben zur Folge. Die Reaktionsflüssigkeit bleibt ungefärbt, sei es, dass die Gewebsschnitte in dieselbe eingetragen werden, oder mit derselben auf den Objektträger überschichtet werden, während die Schnitte selbst Blaufärbung annehmen. Erst bei höherer Konzentration der H_2O_2 -Lösung tritt nach mehreren Minuten leichte Verfärbung der Reaktionsflüssigkeit auf, doch meist erst, nachdem das Gewebe bereits die Farbreaktion gegeben hat. In diesem Falle darf das Ergebnis der Reaktion nicht in positivem Sinne verwertet werden, da sich doch die Gefahr einer blassen Färbung des Schnittes nicht vermeiden lässt. Die Stärke der H_2O_2 -Konzentration hat einen wesentlichen Einfluss auf den Verlauf der Reaktion. Bei schwächster Konzentration reagieren bloss die Glomerulusepithelien und Endothelien der Gefäße, bei steigender die Epithelien der Harnkanälchen, ihr Plasma, die roten Blutkörperchen etc.

Versuch XVID.

Von November bis zum 9. März in Formalin gelegene Nierenschnitte zeigen mit Tolidin 10,0 in phys. NaCl-Lösung H_2O_2 0,3 cm³ scharfe Kernreaktion. Also auch mindestens 3 monatlicher Aufenthalt in Formalinlösung vernichtet die Kernreaktion der Niere nicht. Gasentwicklung fand nicht mehr statt. Somit wurde die Katalase durch die lange Formalinkonservierung vernichtet.

Versuch XVIIA.

Leber vom Meerschweinchen 24 Stunden auf Eis aufbewahrt.

- | | | |
|-----------------------------|--|--|
| a) Tolidin gesättigte wäss. | 0,1 cm ³ einer | Trotz längerem Aufenthalte |
| Lösung 10 cm ³ | Verdünnung von | im Schälchen nicht gefärbt. |
| dazu | 0,02 cm ³ H_2O_2 zu | Zur Kontrolle verwendetes Leukozytenprä- |
| | 10 cm ³ Wasser | parat positiv. |
| b) Tolidin gesättigte wäss. | 0,02 cm ³ H_2O_2 | Bei schwacher Vergrößerung |
| Lösung 10 cm ³ | | im Schälchen: Kerne der |
| dazu | | Leberzellen blau. Bei starker |
| | | Vergrößerung am Objekt- |
| | | träger: Chromatin und Kern- |
| | | körperchen blau, allerdings |
| | | nur in einzelnen Läppchen |
| | | nachweisbar. |

- c) Tolidin gesättigte wäss. 0,15 cm³ H₂O₂ Dieselben Verhältnisse wie bei Lösung 10 cm³ b, nur rascher eintretende Färbung dazu

Bei b und c zeigt das Endothel der Blutgefäße blaue Kerne, bei b und c starkes Schäumen. Besonders bei c rasches Umschlagen der Blaufärbung in Braun, so dass eine Trennung zwischen Kern und Plasma, welch letzteres ebenfalls braun wird, erschwert ist.

Versuch XVIIIB.

Ein Stück von derselben Leber gekocht, mit den gleichen Reaktionslösungen wie bei A behandelt.

- a) Keine Reaktion wie bei Aa.
- b) Schwächere Färbung der Kerne als bei Ab.
- c) Färbung der Kerne früher als bei Bb. Plasma der Leberzellen grünlich, Plasma der Gallengangsepithelien blau; bei a und b rote Blutkörperchen nicht gefärbt, bei c zeigen sie einen grünlichen Stich.

Dieselben Reaktionsverhältnisse haben wir an der Leber vom Kaninchen erhoben. Bei 30stündiger Formalinfixation der Leberstücke kommt es zu einer diffusen nicht mehr aufs Chromatin beschränkten Färbung der Kerne; in einzelnen Fällen ist das Plasma nicht gefärbt.

Als Repräsentanten der Kaltblütler wählten wir den Frosch. An seiner Leber lässt sich in der Peroxydasereaktion keine Abweichung von der Leber des Warmblütlers erkennen.

Die braun gewordenen Schnitte wurden wieder in das System Tolidin + H₂O₂ zurückgebracht. Es trat eine neuerliche Blaufärbung der Kerne auf, die zu dem gebräunten Plasma in scharfem Kontraste steht.

Im ganzen bestätigen die an der Leber gewonnenen Resultate die Erfahrungen, die wir an den Nierenschnitten gesammelt haben: Widerstand der Kernpseudoperoxydase gegenüber hohen Temperaturen, die erst auf höhere H₂O₂-Konzentration eintretende Kern- und Plasmareaktion. Gekochte Präparate reagieren bei gleicher H₂O₂-Reaktion etwas schwächer als nicht gekochte. Erhöhung des H₂O₂-Quantums bringt schönere Bilder als bei nicht erhitzten Präparaten.

Bei negativem Ausfall der Probe ist die Reaktionsflüssigkeit mit Leukozytenaufstrichen (Gonorrhoe) auf ihre Wirksamkeit zu prüfen.

Versuch XVIII.

Submaxillaris vom Kaninchen. 10 Minuten in kochendem Wasser belassen.

- | | | |
|---|--|--|
| a) Tolidin, wässrige gesätt. Lösung 10 cm ³ dazu | 0,1 cm ³ einer Verdünnung von 0,02 cm ³ H ₂ O ₂ zu 10 cm ³ Wasser | Auch nach längerem Verweilen der Schnitte in der Lösung bloss die Endothelkerne blau. |
| b) Tolidin, wäss. gesätt. Lösung 10 cm ³ dazu | 0,01 cm ³ H ₂ O ₂ | In den Drüsenepithelien ist in einigen Zellen das Chromatin blau gefärbt, in anderen der Kern diffus blau. In den Ausführungsgängen sieht man die zentralen blauen Kerne in braunem Plasma liegen. |
| c) Tolidin, wäss. gesätt. Lösung 10 cm ³ dazu | 0,15 cm ³ H ₂ O ₂ | Rascherer Eintritt der Färbung als bei b. Die Färbung ist intensiver, aber nicht so distinkt wie bei b. Schon im Schälchen treten bei schwacher Vergrößerung die braunen Bänder der Ausführungsgänge mit den blauen zentralgelegenen Kernen merklich hervor. Die Braunfärbung des Protoplasmas betrifft wie feine Ringelchen aussehende Granula. |

Formalinfixierte Präparate gaben so ziemlich mit den eben erwähnten übereinstimmende Resultate, sie schienen sich länger blau zu erhalten. Wie wir schon an der Leber sahen, war bei nicht gekochtem Gewebe nur eine ungleichmässig über die Läppchen verteilte Reaktion zu erzielen. Nach vorherigem Kochen der Submaxillaris trat auch bei dieser eine ausnahmslos alle Läppchen betreffende Reaktion auf. An der Parotis wiederholten sich die an der Submaxillaris erhobenen Befunde: Blaufärbung der Drüsenepithelkerne, Braunfärbung der Plasma-granula der Ausführungsgänge und Blaufärbung der in der Zellmitte gelegenen Kerne.

Auch am Duodenum des Meerschweinchens (gekocht) werden die Kerne der Lieberkühnschen Drüsen blau, ebenso die Kerne der glatten Muskulatur, des Bindegewebes und der Endothelien, während an den Brunnerschen Drüsen in den wenigen von mir untersuchten Präparaten nur Kern-, aber keine Granulareaktion erkennbar ist.

Versuch XIX A.

Nebenniere eines Kaninchens durch 36 Stunden in 5% Formalin fixiert.

- | | | |
|--|---|--|
| a) Tolidin gesättigte wäss. Lösung 10 cm ³ dazu | 0,05 cm ³ einer Verdünnung von 0,02 H ₂ O ₂ zu 10,0 Wasser | Keine Farbreaktion. Leukocytenaufstrich positiv. |
| b) Tolidin gesättigte wäss. Lösung 10 cm ³ dazu | 0,01 cm ³ H ₂ O ₂ | Schon makroskopisch färbt sich zuerst das Mark und zwar intensiver blau als die Rinde. Mikroskopisch: Insbesondere die Kernkörperchen der Markzellen blau, das Plasma bläulich, rote Blutkörperchen bräunlich. |
| c) Tolidin gesättigte wäss. Lösung 10 cm ³ dazu | 0,15 cm ³ H ₂ O ₂ | Gleiches Verhalten wie bei b. Nur früher eintretende Färbung. Grünfärbung des Plasmas der Kerne der Zona fasciculata. |

Versuch XIX B.

Ein Stück der Nebenniere gekocht:

Reaktionsflüssigkeit des vorigen Versuches. Deutliche distinkte Kernchromatinfärbung, insbesondere der pigmentierten Zellen der Zona reticularis.

Versuch XX.

Uterus des Kaninchens, der Reaktion unterworfen, ergab: Blaufärbung der Kerne der glatten Muskulatur, des Bindegewebes, der Schleimhaut.

Benzidin in wässriger Lösung als Reaktionsmittel an Stelle des Tolidins zeigte makroskopisch und mikroskopisch schwächere Färbung und raschere Farbenänderung nach Braun, Umstände, die zugunsten des Tolidins in die Wagschale fallen.

Versuch XXIA.

Was die quergestreifte Muskulatur betrifft, so zeigt die Untersuchung des Herzens der Maus: sofort nach der Tötung vereist und geschnitten.

- | | | |
|---|---|---|
| a) Tolidin gesättigte wässrige Lösung 10,0 cm ³ dazu | 0,01 cm ³ einer Verdünnung von 0,01 cm ³ H ₂ O ₂ zu 10 cm ³ H ₂ O | Keine sichtbare O-Entwicklung. Blaufärbung der Muskelkerne, der Bindegewebs- und Endothelkerne. |
| b) Tolidin gesättigte wässrige Lösung 10,0 cm ³ dazu | 0,01 cm ³ H ₂ O ₂ | Starke O-Entwicklung, färberisch, gl. Verh. wie bei a. |

Versuch XXIB.

Am gekochten Organ:

Mit Lösung a durch 10 Minuten keine Reaktion. Erst nach einer viertel Stunde Blaufärbung; mit Lösung b schönere Färbungsverhältnisse wie bei Ab an dem nicht gekochten Präparat. Gleichmässige Färbung der Muskelkerne und Grünfärbung der Muskelfasern.

Es zeigt sich hier bei einem sehr geringen H_2O_2 -Gehalt Pseudoperoxydasereaktion der Herzmuskelfasernkerne.

Das Plasma der quergestreiften willkürlichen Muskulatur und ihre Kerne (Proc. xyphoides, Trachea) färben sich grünlich bzw. blau.

Es wäre interessant, systematisch zu untersuchen, ob der Herzmuskel nicht bei geringerer H_2O_2 reagiert als die willkürliche Muskulatur, was wir leider unterlassen haben.

Bezüglich der Lokalisation der Peroxydase im Knorpel bringt Unnas Mitteilung keine vollständige Klarheit. Seite 9¹⁾ heisst es, dass „die blaue Farbe an den Kernen der Mastzellen und dem Knorpel haftete“.

Seite 10 an Celloidin eingebetteten Gefrierschnitten: „Auch hier zeigte sich eine äusserst regelmässige, schön blaue Kernfärbung, so dann eine Färbung der Mastzellen (blauschwarz) und des Knorpels (violett)“. Seite 17 derselben Mitteilung: „die sekundären Sauerstofforte dagegen (Protoplasma, Knorpelgrundsubstanz, Muskeln, Kollagen) geben keine Peroxydasereaktion“. Ist Seite 9 und 10 nur der Kern der Knorpelzellen gemeint? Violett, metachromatisch färbt sich aber in unseren Versuchen die Knorpelgrundsubstanz.

Versuch XXII.

Im folgenden teilen wir einen Versuch an der Trachea eines Kaninchens, 41 Stunden auf Eis konserviert, mit:

- | | | |
|---------------------------------------|---|---|
| a) Tolidin gesättigte wässrige Lösung | 0,1 cm ³ einer Verdünnung von 0,05 cm ³ H_2O_2 zu 10 cm ³ H_2O | Schöne Blaufärbung der Knorpelgrundsubstanz besonders um die Knorpelkapsel. |
| 10 cm ³ | | |
| dazu | | |
| b) Tolidin gesättigte wässrige Lösung | 0,05 cm ³ H_2O_2 | Kern in einzelnen Knorpelzellen gefärbt. Fettkügelchen in den Knorpelzellen nicht gefärbt. |
| 10 cm ³ | | |
| dazu | | |
| c) Tolidin gesättigte wässrige Lösung | 0,15 cm ³ H_2O_2 | Die Konzentration des H_2O_2 macht keinen wesentlichen Unterschied in der Knorpelfärbung. |
| 10 cm ³ | | |
| dazu | | |

¹⁾ Dermatol. Wochenschr., 1912, Nr. 1.

Bei der mit gleichen H_2O_2 -Konzentrationen behandelten $\frac{3}{4}$ Stunde gekochten Trachea bleiben Knorpelzellen und Grundsubstanz mit Toluidin- und Benzidinlösung ungefärbt.

In Formalin fixierten Trachealschnitten färbt sich die Knorpelgrundsubstanz nur an beiden Enden der Knorpelplatte. Kerne der Knorpelzellen schwach blau.

In Meerschweinchentrachea (gekocht) nur am Rande des Knorpels, (ungekocht metachromatisch bis zu orange) hellblau. Die angrenzende Schilddrüse zeigt prachtvolle grünliche Kernfärbung (in gekochtem Zustande) der Schilddrüsenepithelien.

An der Mausschnauze zeigt sich das dünne Netz der Knorpelgrundsubstanz um die weiten Knorpelkapseln violett gefärbt (nicht gekocht).

Die Lunge des Kaninchens zeigte bei der schwächsten H_2O_2 -Konzentration a bereits Blaufärbung der Kerne der Lungenalveolarepithelien, des Bindegewebes. Leukozytenkerne blau und Granula braun. Die roten Blutkörperchen blieben ungefärbt.

Von pathologischen Bildungen haben wir nur einen Plattenepithelkrebs untersucht (Formalinfixation). Die Basalzellen erscheinen diffus gefärbt, an den zentral gelegenen Zellen reagierte das Kernkörperchen positiv.

Um nicht zu weitläufig zu werden, begnüge ich mich mit der Mitteilung der bisherigen Protokolle; die Untersuchungen hatten ja vor allem den Zweck, uns über die Brauchbarkeit und Sicherheit der Methode zu orientieren. Ist sie auch für die Gefrierschnitte zweifellos erwiesen, so müsste, sollte die Reaktion für exakte pathologisch-anatomische und normal histologische Untersuchungen allgemeine Anwendung finden, die Darstellung der Reaktion an Paraffinschnitten gezeigt werden.

VI. Paraffinschnitte.

Da die Fixation in Alkohol ohne Einfluss auf die Peroxydase der Gewebe war, hohe Temperaturen nur die Granulaperoxydase der Leukozyten, nicht aber die Kernpseudoperoxydase vernichteten, so war für die Frage der Paraffineinbettung die Verträglichkeit von Xylol-Alkohol und Xylol, der längere Aufenthalt der Gewebestückchen im Paraffinschrank bei 56° entscheidend.

Tatsächlich sind diese Faktoren ohne Einfluss auf die Pseudoperoxydasenreaktion.

Die Behandlung der Gewebestückchen bis zur Paraffinaufbettung des Blockes war die übliche. Die Schnitte wurden auf dem Objektträger in 50% Alkohol unter mässigem Erwärmen gestreckt.

Die Reaktionsflüssigkeit wurde entweder auf die aufgeklebten durch Xylol, Alkohol und Wasser gezogenen Schnitte geträufelt, oder die mit den Schnitten beschickten Objektträger in ein mit der Reaktionsflüssigkeit gefülltes Standglas gebracht.

Für Paraffinschnitte muss die H_2O_2 -Konzentration allerdings kräftiger gewählt werden, und so wurde gewöhnlich $0,1 \text{ cm}^3$ bis $1 \text{ cm}^3 \text{ H}_2\text{O}_2$ (Perhydrol) zu 10 cm^3 wässriger Tolidinlösung zugesetzt.

CO_2 wurde bald längere (5–10 Minuten) bald kürzere Zeit (nicht ganz 1 Minute) in langsamem Strom durch die Reaktionsflüssigkeit geleitet, da ja hier Einführung quantitativer Verhältnisse auf grosse Schwierigkeiten stösst. Es ist vielleicht nicht überflüssig, zu erwähnen, dass wie bei den vorhergehenden Versuchen strenge darauf geachtet wurde, dass die den Schnitt überschichtende Flüssigkeit farblos bleibe, da bei Färbung derselben eine blasse Färbung des Schnittes sich nicht ausschliessen lässt, nur in ungefärbt bleibender Reaktionsflüssigkeit aber von einer mit Sicherheit eingetretenen Farbreaktion die Rede sein kann.

Der Rückgang des Präparates durch Alkohol und Xylol ist womöglich zu vermeiden, da Alkohol-Xylol schon nach einer halben Minute den blauen Farbstoff ausziehen. Ich habe mich daher auf eine Trocknung der Schnitte durch vorsichtiges Aufdrücken von schwedischem Filtrierpapier beschränkt, und nachdem dieselben auf diese Weise wasserfrei geworden waren, sie in neutralem Canadabalsam unter dem Deckglas beobachtet.

Unter Umständen kann man die Präparate, wenn sie mit Filtrierpapier getrocknet sind, rasch zur Aufhellung durch Alkohol und Xylol ziehen; dauert dieser Vorgang nur eine Sekunde, so wird die Färbung des Präparates nur wenig beeinflusst.

Leider ist die Farbe der Präparate nicht haltbar. Das Blau schlägt in Braun um; doch gab es Schnitte (Milz) die bis zu 8 Tage ihre Farbe bewahrten. Innerhalb 24 Stunden pflegt die Färbung sich nur unwesentlich abzuschwächen.

Farbkraftigere Bilder erhält man, wenn man sich der Schälchenmethode (Unna, Fick), anstatt der Aufklebemethode bei Behandlung der Paraffinschnitte bedient. Zu ihrer Übung gehört allerdings bei dünnen Schnitten längeres Einarbeiten.

Versuch XXIII A.**Rückenmark einer jungen Katze. Alkoholfixation.**

Im bläschenförmigen Kerne der Ganglienzellen der Nukleolus intensiv blau, das spärliche Chromatingerüst schwächer gefärbt. Nisslgranula blau, auch die kleineren Granula, die sich in die Ganglionfortsätze erstrecken. Chromatin der Gliazellen gefärbt.

Versuch XXIII B.**Grosshirnrinde derselben Katze.**

Die kleinen und grossen Pyramidenzellen zeigen bezüglich der Kernfärbung die gleichen Verhältnisse wie oben.

Bemerkt sei noch, dass in Formalin fixiertes Rückenmark (4 Wochen) bloss Reaktion der Blutgefässendothelien ergab, und von diesen aus eine Diffusion des Farbstoffes in die Umgebung mit Färbung (nicht Farb-reaktion) der dem Gefäss knapp anliegenden Zellen.

Versuch XXIV.**Cornea, Katze gekocht, 1 cm³ H₂O₂-Zusatz + 1/4 stündige CO₂-Leitung.**

Farbreaktion nicht allein auf das Chromatin der Epithelzellen beschränkt, sondern diffuser über den ganzen Kern. Hornhautkörperchen zeigen bläuliche Kerne.

In einem anderen Falle ergab Cornea (Alkoholfixation, mit Tolidin-H₂O₂ ohne CO₂-Durchleitung) negative Resultate.

Mit Gefrierschnitten (allerdings ohne CO₂-Durchleitung oder Säurezusatz) hatten wir immer negative Resultate. Die diffuse Färbung der Epithelien an den Paraffinschnitten hängt möglicherweise mit der zu starken Säuerung der Reaktionsflüssigkeit zusammen.

Der positive Ausfall an den Corneaepithelien scheint mir deshalb von Bedeutung, weil es sich um ein hämoglobinfreies Organ handelt, wovon später noch im Zusammenhange die Rede sein wird.

Versuch XXV A.**Mausschnauze. Tolidin 10,0. 0,1 cm³ H₂O₂ + CO₂.**

In die Augen springend sind die schön sattblau gefärbten Granula der Mastzellen, bei denen in einer grossen Zahl die Kerne als helle Lücken ausgespart erscheinen. An der Basalzellschicht der Epidermis ist das Kernchromatingerüst stärker gefärbt als im Stratum Malpighii. Das Plasma zeigt leicht bläulichen Ton. Haare, Epidermis ungefärbt. In der äusseren und inneren Haarwurzelscheide ist das Chromatin der Epithelien gebläut. Quer-gestreifte Muskulatur: Muskelsubstanz bläulich, Kern blau, in anderen Präparaten ist die Muskelsubstanz braun.

Versuch XXVB.**Mausschnauze gekocht.**

- | | | |
|---|---|---|
| a) Tolidin
+ H ₂ O ₂ | + n/40 Oxalsäure
1,0 cm ³ | Mastzellen bei schwacher Vergrößerung durch ihre blaue Farbe hervortretend, im dunkelblau granulierten Leib der ungefärbte ausgesparte Kern.
Kern der Epithelien der Epidermis, der Bindegewebszellen blassblau, so dass ein schön kontrastierendes Bild entsteht. |
| b) Tolidin
+ H ₂ O ₂ | + n/40 Oxalsäure
2 cm ³ | Keine Färbung überhaupt. Nachheriger Zusatz von Tolidin H ₂ O ₂ + CO ₂ ohne Oxalsäurezusatz ergibt elektive Färbung der Mastzellen. Diese allerdings blassblau. |
| c) Tolidin
+ H ₂ O ₂ | + n/40 Oxalsäure
1 1/2 cm ³ | Fast elektive Färbung der Mastzellen, sonst einzelne, nur schwach gefärbte Zellen noch sichtbar. |

Gleiche Verhältnisse wie bei Versuch XXVA erhielten wir auch an Gefrierschnitten, wobei nach einminütigem Kochen der Schnitte in destilliertem Wasser die Mastzellengranula ihre Reaktionsfähigkeit beibehielten.

Es ergibt sich also der wichtige Befund, dass die Granula der Gewebsmastzellen eine hitzebeständige Peroxydase, also eine Pseudoperoxydase enthalten, welche bei saurerer Reaktion, bei der die übrigen Gewebe nicht mehr reagieren, noch Blaufärbung mit dem System Tolidin-Wasserstoff-superoxyd zeigen.

Zum Schlusse noch ein Protokoll über Milz und Lymphdrüse.

Versuch XXVI.

Die Schnitte gekochter, dann in Alkohol gehärteter Milz der Maus sind schon makroskopisch intensiver gefärbt als die des frischen nicht gekochten, aber sonst gleich behandelten Organs.

Bei schwacher Vergrößerung repräsentieren sich die Malpighischen Knötchen als helle Kreise, deren Peripherie aus vom Zentrum zum Rande an Farbenintensität zunehmenden Lymphozyten besteht, so dass ein allmählicher Übergang vom farblosen zentral gelegenen zum peripher gelegten normal reagierenden Lymphkörperchen zu konstatieren ist. In den Leukozyten ist teils nur der Leib, teils der Kern, teils Kern und Leib gefärbt, wobei der Kern je nach seinem Chromatingehalt bald eine gefüllte blaue Scheibe, bald ein feines blaues Netz darstellt. In den Riesenzellen das Plasma blassblau, Kerne blau. An formalinfixierten Gefrierschnitten der Milz der gleiche Befund (siehe Kap. IV).

Versuch XXVII.

Lymphdrüse aus dem Pancreas aselli einer jungen Katze. Hier sind es die um die Lymphsinus und Trabekel gelagerten Lymphozyten, die die in den Lymphfollikeln befindlichen an Farbstärke weit übertreffen, so dass letztere blass, erstere stärker gefärbt erscheinen. Werden im Schnitt die Keimzentren getroffen, so fallen die Zellen derselben durch intensive Dunkelblaufärbung auf; sie stellen die stärkst gefärbten Zellen des Schnittes dar.

Ähnlich verhalten sich die Lymphdrüsen aus der Achselhöhle des Menschen, von dem Lungenhilus eines Pferdes, in welcher letzterem allerdings Keimzentren nicht getroffen waren. An einer atrophierenden Thymus (Hund) zeigten die Kerne der die Läppchen trennenden Bindegewebszellen positive Reaktion, im Gegensatz zu den Lymphozyten der Läppchen.

Greifen wir aus den Befunden das Wesentliche heraus, so ist dies: die Reaktionslosigkeit der Milzfollikel, die Intensität der Reaktion an den Keimzentren der Lymphfollikel. Es braucht wohl nicht erst darauf hingewiesen werden, dass die Malpighischen Knötchen basische Farbstoffe reichlich aufnehmen (siehe Fig. 95 in Krause „Kursus der normalen Histologie“, Taf. 38) und die Keimzentren sich schlechter färben (Ebner, Kölliker).

Ich habe mich auch in diesem Abschnitt nur auf die Wiedergabe von Protokollen beschränkt, die geeignet sind, den Wert der Methode zu beleuchten. Von Detailarbeit habe ich mich vorläufig ferngehalten.

VII. Reaktionsbedingungen.

Wollen wir uns über die Reaktionsprodukte klar werden, so müssen wir auf die Untersuchungen Willstätter und Schlenks und Madelungs Bezug nehmen. Dieser stellte fest (S. 211), dass die blauen durch Oxydation des Benzidins gebildeten Substanzen nicht die sehr unbeständige chinoide Base, das Diphenochinon-diimin sei, sondern, dass es sich um Farbsalze Diphenochinon-diimoniumsalze, bzw. chinhydronartige Verbindungen derselben mit Benzidin, die er unter dem handlichen Namen Benzidinblau zusammenfasst handle. Tolidin, das methyliertes Benzidin darstellt, wird ähnliche Verhältnisse geben, so dass wir in Analogie die Oxydationsprodukte als Tolidinblau bezeichnen können.

Madelung studierte die Bedingungen der Aktivierung des H_2O_2 durch Blut (Hämoglobin) und Peroxydase (Malzextrakt). Bei vollständigem Fehlen von Säure oder Salz findet keine Oxydation des Benzidins statt. Aber nur Spuren von Säure (verdünnte Essig-

säure, CO_2) sind hinreichend, um intensive Färbung hervorzurufen. Grössere Mengen von Säuren, insbesondere Mineralsäuren, verhindern die Reaktion.

Aus den vorangegangenen Beispielen geht hervor, dass auch histologisch der Zusatz von geringen Mengen Oxalsäure oder CO_2 (eventuell Weinsäure oder andere organische Säuren, die zu versuchen wären) eine negative Reaktion in eine positive verwandeln kann, aber wie wir uns oft überzeugten, genügte ein Tropfen verdünnter Salzsäure, um die Reaktion zu vernichten.

Nach Madelung (S. 223) ist die Bildungsgeschwindigkeit des Benzidinblaus in den ersten Minuten recht erheblich, wird nach kurzer Zeit nur noch ziemlich geringfügig, so dass nach 10 Minuten die chemische Bestimmung ausgeführt werden kann. Vom histologischen Standpunkt sehen wir, dass in Leukozytengranulis und supravivalem Gewebe die Reaktion ausserordentlich rasch verläuft und bald das Maximum der Färbung erreicht wird, in gekochtem Gewebe und Paraffinschnitten langsamer abläuft und einen höheren H_2O_2 -Zusatz erfordert.

Auch die Angabe Madelungs, dass das unter CO_2 -Durchleitung ausgefällte Benzidinblau die doppelte Menge dessen beträgt, die ohne Kohlensäure ausfällt, findet in histologischer Beziehung, soweit dies möglich ist, eine Bestätigung, da durch CO_2 nicht nur die Reaktion erst in Gang kommen kann, sondern auch die Farbintensität im Vergleich zur Reaktion mit ungesäuerter Flüssigkeit schon dem blossen Auge auffallen muss.

Das Optimum des NaCl-Gehaltes der Reaktionsflüssigkeit ist bei 1% vielleicht schon überschritten. Diese von Madelung aufgestellte Grenze liegt über der für unsere Zwecke in Betracht kommenden, da die phys. Lösungen 0,9 und 0,65% NaCl enthalten. Wohl wird bei 1% Salzgehalt die Löslichkeit des Benzidinblaus fast vollkommen unterdrückt, allerdings aber nur bei Abwesenheit grösserer Mengen kolloidaler Substanz, durch welche die Abscheidung in kristallinischer, unlöslicher Form behindert wird.

Gerade der Umstand, dass bei histologischen Versuchen das Tolidin- bzw. Benzidinblau nicht kristallinisch ausfällt, ermöglicht erst die Reaktion.

Die Frage, ein wie grosser Teil des H_2O_2 bei Überschuss von Blut im Sinne der Oxydation des Benzidins wirksam ist, beantwortet Madelung dahin, dass $\frac{7}{8}$ des anwesenden O in diesem

Sinne ausgenutzt sind, also höchstens $\frac{1}{8}$ durch Katalasewirkung zersetzt sein kann. Bei Abwesenheit von CO_2 kann nur die Hälfte des H_2O_2 aktiviert werden.

Ich habe durch das Kochen der Gewebe die Katalase ganz ausgeschaltet, und, wenigstens was die Pseudoperoxydase betrifft, stets gefunden, dass die Reaktion in gekochtem Gewebe stärker ausfällt. Da aber auch an Paraffinschnitten an gekochtem und nicht gekochtem Gewebe die Reaktion zugunsten des ersteren ausfällt, so können hier noch andere Umstände mitspielen.

Um bei der Untersuchung supravitaler Organe die auch schon mechanisch störende O-Entwicklung durch Katalase (die die Besichtigung der Schnitte verhindernde Schaumschichte) zu beseitigen, wollte ich das von Batelli und Stern empfohlene Äthylhydroperoxyd in Verwendung ziehen, das durch Katalase nicht zerstört wird, musste aber wegen der mit seiner Herstellung verbundenen Explosionsgefahr davon absehen.

Ich möchte hier nicht unterlassen, auf den Gegensatz zwischen dem Versagen der Reaktion bei Gewebsaufstrichen und dem positiven Ausfall an Gefrierschnitten desselben Gewebstückes hinzuweisen. Welche besonderen Momente beim negativen Ausfall der Reaktion in Betracht kommen können, geht aus den Untersuchungen über die Jodwasserstoffperoxydase hervor. v. Cyhlarz und v. Fürth beobachteten, dass Hb in Gegenwart von H_2O_2 die Oxydation des JH nicht bewirkt, was Madelung durch die unverzügliche Bindung des in Freiheit gesetzten J erklärt. Wolff und Stöcklin sind der Ansicht, dass das Hb sich bei der Oxydation des JH indifferent verhalte, weil es durch die gleichzeitig anwesende Essigsäure inaktiv wird. Ersetzt man die Essigsäure durch Natriumphosphat, so fällt die Reaktion stark positiv aus. Nach Batelli und Stern wird die Oxydation des JH durch das Blut durch die gleichzeitig anwesende Katalase verhindert; verwendet man Äthylhydroperoxyd statt H_2O_2 , so kommt es zu energischer Oxydation des JH.

Können also so verschiedene Faktoren hemmend auf die Reaktion einwirken, durch Erkenntnis und Beseitigung derselben die Reaktion positiv gestaltet werden, so ist vor Generalisierung negativer Befunde weitgehendste Vorsicht geboten.

Aus den chemischen Untersuchungen geht hervor, dass für die Peroxydasewirkung ein Temperaturoptimum besteht. Ich muss

nich darauf beschränken zu konstatieren, dass leicht erwärmte Lösungen (Filtrat der zum Sieden erhitzten Lösung des Tolidins) eine Reaktionsbeschleunigung im Vergleiche zu Lösungen von Zimmertemperatur bedingten.

Der Widerstandsfähigkeit der Peroxydase gegen autolytische Prozesse (48 Stunden langes Konservieren auf Eis) wurde bereits in Kapitel V gedacht.

VIII. Die mikrochemische Lokalisation.

1. Ist durch den Umstand, dass die Reaktionsflüssigkeit vollständig ungefärbt bleibt, während der Aufstrich oder der Schnitt eine an Intensität zunehmende Bläuung zeigen, mit absoluter Sicherheit bewiesen, dass das Gewebe selbst die Aktivierung des H_2O_2 und die Oxydation des Tolidins zu Tolidinblau besorgt, so erhebt sich die Frage, ob die gefärbten Stellen wirklich Sitz der Reaktion sind, oder ob es sich nur um Lokalisation des Farbstoffs durch die Affinitätsverhältnisse des Gewebes zu demselben (Adsorption) handelt. Schon bei der Winklerschen Reaktion vertrat Dietrich die letztere Anschauung und schrieb den Lipoidkörpern der Granula die Fähigkeit zu, Indophenolblau zu fixieren, ohne dass den Granulis mit zwingender Notwendigkeit auch die Fähigkeit, den Farbstoff zu oxydieren zugeschrieben werden muss. —

Für den ersten Standpunkt scheinen mir Versuche an den bis 130° erhitzten gonorrhöischen Leukozytenaufstrichen beweisend.

Während nach minimalem Säurezusatz zur Reaktionsflüssigkeit sich der Kern an nicht erhitzten zuerst bläulich, dann die Granula braun färben, ist bei 130° die Granulareaktion vernichtet, während die Kernreaktion fortbesteht. Wäre die Granulareaktion bloss eine Folge der durch die Kernreaktion angeregten Tolidin-oxydation, dann müsste sie auch jetzt noch eintreten, zumal der Kern der Leukozyten sich noch intensiver färbt als vor der Temperaturerhöhung.

Unverständlich wäre es auch, warum sich die Milzfollikel (Kap. VI) nicht färben sollten, während sie sich mit basischen Farben, wie wir uns selbst überzeugen konnten (Methylenblau), intensiver färben als die Umgebung.

Ein anderer Umstand, der in Erwägung gezogen werden muss, ist die Möglichkeit einer Hb-Durchtränkung des Gewebes,

so dass nicht die maskierte Eisenverbindung des Chromatins (siehe später), sondern das durch irgendwelche Manipulation in Lösung gegangene und vom Kern aufgenommene (Gefrieren und Wiederauftauen am Mikrotom etc.) Hb zur Ursache der Reaktion wird.

Versuche an einem hämoglobinfreien Organ, der Cornea, beweisen, dass diese Annahme nicht zu Recht besteht.

Wohl kommt es besonders an Formalinpräparaten (z. B. an Hoden, Rückenmark) vor, dass Endothelien und rote Blutkörperchen sich allein färben und von diesen aus blaue Höfe ausstrahlen und die umgebenden Gewebe in das Bereich der Färbung ziehen. Auch an normal reagierenden Schnitten zeigt sich hier und da besonders die direkte Nachbarschaft der roten Blutkörperchen intensiver gefärbt als die übrigen Gewebe; doch sind derartige Präparate sofort zu erkennen und zu verwerfen, da an gelungenen Präparaten die Farbreaktion bloss auf Chromatin, Kernsubstanz oder Zelleib beschränkt ist, wobei keinerlei Diffusion des Farbstoffes zulässig ist.

Dass das Hämoglobin, das ja erst von einer gewissen H_2O_2 -Konzentration ab reagiert (mit Blaufärbung), den Anstoss zur Tolidin oxydation gebe und erst durch diese die blaue Färbung des Chromatins zustande käme, widerlegt sich am besten durch die Versuche, nach welchen an formalinfixierten Präparaten (z. B. Blutaufstrichen) die Kernperoxydase der Leukozyten bereits reagiert, während die roten Blutkörperchen in ihrer blassen Eigenfarbe erscheinen.

Wollte man aber annehmen, dass z. B. bei den Eiterzellen schon im Organismus im Eiterserum Spuren von Hb in Lösung sich befinden, die vom Kernchromatin adsorbiert werden und auf diese Weise eine positive Kernreaktion ergeben, so spräche das für die Methode, die ja nur den Zweck hat, die Peroxydase im allgemeinen, also auch die Pseudoperoxydase des Hb nachzuweisen. Aufgabe der experimentellen Histologie wäre es dann, unzweideutige Bedingungen und einwandfreies Material für diese Methode zu schaffen. In der hämoglobinfreien Cornea besitzen wir es. —

2. Übersehen wir nun die Lokalisation der Reaktion auf Grund der bisherigen Ergebnisse, so finden wir, dass ausnahmslos alle Kerne, ihr Nucleolus und das Chromatin positiv mit Blaufärbung reagieren. —

Wohl kommt es vor, dass bei supravitaler Reaktion keine Kernreaktion eintritt, doch habe ich zu wiederholten Malen darauf hingewiesen, dass negative Befunde nicht entscheiden und diesen absolut beweisende positive Befunde gegenüber stehen.

Was nun die Plasmareaktion betrifft, so sind es vor allem die Granula der feingranulierten Leukozyten (neutrophilen), der grobgranulierten (eosinophilen), die Granula der Gewebsmastzellen, die das Interesse wachrufen. Erstere färben sich für gewöhnlich in lufttrockenen Aufstrichen bräunlich bezw. dunkelbraun, die basophilen Gewebszellen blau. Es reagieren die Nissischollen, das Plasma der quergestreiften Muskulatur, der Ausführungsgänge der Speicheldrüsen (braun), der Leberepithelien, der Zellen, der Zona fasciculata der Nebenniere, der Zelleib der roten Blutkörperchen etc.

Die Knorpelgrundsubstanz reagiert oft mit metachromatischer Färbung. — Es fehlte mir an Zeit, gerade der interessanten Plasmareaktion und den Bedingungen ihres Auftretens die entsprechende Aufmerksamkeit zu schenken, es handelt sich bloss um vorläufige Feststellungen, die hoffentlich den Ausgang für weitere Untersuchungsreihen bilden werden.

Der Versuch, die erklärende Grundlage für die Reaktion zu schaffen, muss sich auf Mac Callums Arbeiten über den mikrochemischen Nachweis des Eisens und seine Lokalisation stützen. Er konnte mittels seiner Ammoniumsulfidglyzerin-Methode den Nachweis erbringen, dass alles Chromatin der untersuchten Zellarten pflanzlichen und tierischen Ursprungs die Reaktion auf maskiertes Eisen gab, d. h. auf fest gebundenes Fe zum Unterschied von den anorganischen Verbindungen des Metalls.

Das aufgedeckte Eisen konnte nicht vom Hb stammen, da Hb in Pflanzenzellen nicht gefunden wird, die Kerne frei von Hb und Hämatin sind, an denen z. B. das Cornealepithel, die Epidermiszellen der menschlichen Haut und die kristallinische Knorpelzelle eine Reaktion gab, die ebenso deutlich wie die in anderen Zellen ist (S. 583).

Da komplexe Eisenverbindungen unter bestimmten Bedingungen Peroxydasereaktion geben, diese im Chromatin von Mac Callum nachgewiesen wurden, so liegt der Schluss sehr nahe, dass mit allergrösster Wahrscheinlichkeit das maskierte Eisen des Chro-

matins als Erreger der Peroxydasereaktion zu gelten hat.

Eine wesentliche Ergänzung dieser Folgerung bildet der Nachweis komplexer Eisenverbindungen im Plasma der Zellen; soll es sich doch sogar an der Bildung der Fermente der Speicheldrüsen, Pankreas, Magen und Lieberkühnschen Drüsen beteiligen. Hier müssen besondere Untersuchungen mit meiner Peroxydasereaktion einsetzen.

Die oxyphilen Granula bei Katze und Frosch enthalten nach Mac Kenzie maskiertes Eisen, Scott glaubt, dass während der Entwicklung der Ganglienzellen das Material für die Nissischollen aus der maskierten Eisenverbindung des Kerns geliefert wird.

Auch im Cystoplasma der Protozoen findet sich Fe in der festgebundenen Form. Als weiteren Beweis, dass der Peroxydase im allgemeinen eine Eisenverbindung zugrunde liegt, kann die Annahme Madelungs gelten: Man kann mit Sicherheit sagen, dass, wo immer eine Oxydase oder Peroxydase Benzidinblaubildung verursacht, dies jedenfalls nicht durch einen allenfalls vorhandenen Mangangehalt erklärt werden kann, da Mangansalze nur bei schwach alkalischer Reaktion wirksam sind, „alkalische Reaktion“ aber Benzidinblaubildung ausschliesst.

Die einzigen sekretorischen Zellen, welche in ihrem Cytoplasma kein mikrochemisches Eisen enthalten, sind die Nervenröhrchen. Auch dieser Mac Callumsche Befund braucht vergleichende Untersuchungen zwischen Peroxydase- und Eisenreaktion.

Und auch die Tatsache, dass zweiwertiges Eisen in wässriger und kolloidaler Lösung unter bestimmten Bedingungen mit H_2O_2 Verbindungen von hohem Oxydationspotential eingeht, sei hier hervorgehoben, um so mehr, als sich weitgehende Ähnlichkeiten mit tierischen und pflanzlichen Peroxydasen was Temperatur und Einfluss an H^+ und OH^- betrifft (Wolf und Stoecking, F. Röhmann und T. Shmamine) finden.

Aber auch durch indirekte Beweisführung kann die Wichtigkeit des Eisens für die Peroxydase dargetan werden. Hämatoporphyrin, das eisenfreie Spaltprodukt des Hb, besitzt keine Oxydationswirkung (Moitessier).

IX. Die Rongalitweissreaktion. Pseudooxydase.

Es war naheliegend, sich bei der innigen Beziehung zwischen Peroxydaseorten zu den Sauerstofforten¹⁾ Unnas mit der Rongalitweissreaktion zu beschäftigen, um so mehr, als mir eine kritische Beurteilung der Methode notwendig schien, deren Aufgabe es sein muss, die Grenzen ihrer Brauchbarkeit festzustellen.

1. Die Fragestellung lautet: Was leistete Unnas RW-Methode?²⁾
2. Besteht das von Unna aufgestellte Gesetz von einem Ausschluss der Sauerstoff- und Reduktionsorte wirklich zu Recht?
3. Welches sind die Beziehungen zwischen der in den Geweben nachgewiesenen Pseudoperoxydase zu den Sauerstofforten Unnas?
1. Vor allem sei in aller Kürze das Wesen der Methode mitgeteilt.

Methylenblau wird durch Rongalit zur Leukobase reduziert. In dieses Reduktionsprodukt Leukomethylenblau oder RW I wird der Gefrierschnitt eingetragen, 1—5 Minuten darin belassen, dann durch rasches Schwenken im Wasser (mehrmaliger Wasserwechsel durch Einbringen in verschiedene Schälchen) vom überschüssigen Rongalit befreit, dann 15—20 Minuten auf dem Objektträger oder im Leitungswasser gelassen, bis sie die maximale Blaufärbung erreicht haben (Unna und Golodetz, Monatshefte für prakt. Dermatol. 1910, Bd. 50, S. 451, Arch. f. mikr. Anatomie, S. 35, Bd. 78).

Während nun in der ersten Abhandlung noch von einer Vernichtung der Sauerstofforte durch Hitze (Kochen) die Rede ist, diese also als Oxydase bezeichnet werden (Arch. f. mikr. Anatomie, 4. Zeile, S. 35), so werden in der zweiten Abhandlung (Dermatol. W., Bd. 54, S. 14) die Sauerstofforte durch hitzebeständige mineralische Katalysatoren repräsentiert, der Gedanke an eine Oxydase also fallen gelassen.

Den die Reaktion vernichtenden Einfluss des Celloidinverfahrens gelingt es Unna durch Darstellung eines RW II

¹⁾ Siehe Überschrift des Kapitels D, S. 129 in Ehrlichs „Sauerstoffbedürfnis des Organismus“.

²⁾ RW — die von Unna gebrauchte Abkürzung für Rongalitweiss — werde ich ebenfalls verwenden.

(Medizin. Kl. 1912, Nr. 23) zu beseitigen. Blau 1900 (Gallocyanin) wird durch Rongalit in Reduktion erhalten. In dieser Abhandlung wird bereits das Färbeergebnis als Resultante zweier Affinitäten angesehen, der Affinität der Leukobase zu dem Gewebsbestandteil und der Affinität des Sauerstoffes in demselben zur Leukobase.

Ein einfacher Versuch soll eine weitläufige Kritik ersetzen. Ein Stückchen „aschenfreies“ Filtrierpapier zur quantitativen chemischen Analyse aus der Fabrik Max Dreverhoffs in Dresden ca. 2 mm² wird in RW I und RW II gelegt und genau nach Unnas Vorschrift behandelt.

Schon nach 5 Minuten (mit destilliertem Wasser benetzt auf den Objektträger gelegt) deutliche Blaufärbung, die in 10 Minuten sehr ausgesprochen ist, also in der Hälfte der vom Autor für die zu prüfenden Objekte gegebenen Blaufärbungsfrist. Mikroskopisch: jede einzelne Cellulosefaser diffus gebläut.

Wenn man bedenkt, dass in dem ganzen Filter 0,00001 gr Asche vorhanden sind, in dem kleinen zur Reaktion verwendeten Teil 0,000002 gr Asche, in dieser doch nur der kleinste Teil Kationen, so muss man, will man auch hier von katalysierenden Substanzen reden, verzweifeln, einen Stoff zu finden, der nicht katalysieren würde.

Was Unnas Methode fehlt, ist die Kontrolle. Fände sich ein Stoff, der zu Methylenblau Affinität besitzt, die RW-Reaktion nicht gäbe, würde dieser stets als Kontrolle dienen können, vorausgesetzt, dass zu dieser angesäuertes Methylenblau verwendet wird. Mir ist ein solcher nicht begegnet.

Liegt es beim Filtrierpapierversuch nicht näher, an eine durch die feine Oberflächenverteilung bedingte Lufoxydation zu denken, ohne Zuhilfenahme aller katalytischen Faktoren?

Ein wie mir aber scheint wichtiger Unterschied zwischen der Filtrierpapierleukobasenoxydation und Schnitten frischer Organe (Leber, Niere) lässt sich aber leicht konstatieren: die Schnelligkeit des Eintritts der Färbung bei letzteren.

In der Beschleunigung der Oxydation der Leukobase durch die katalysierende Eigenschaft gewisser Verbindungen (maskiertes Eisen Mac Callums, eisenhaltige Nucleoproteide Spitzers), die der Luftsauerstoff bewirkt, könnte das brauchbare Prinzip bei der RW-Methode gesucht werden.

Also nochmals wiederholt: Aufstellung einer Kontrolle, scharfe Ausarbeitung des Prinzips der Beschleunigung durch die katalysatorisch wirkenden Faktoren könnten möglicherweise der RW-Methode einen entsprechenden Wert sichern.

2. Nach Unna lassen sich die Gewebe in zwei Gruppen teilen, je nachdem in ihnen die Reduktionsorte und Sauerstofforte völlig getrennt, oder zum Teil oder ganz zusammenfallen.

Zu ersteren rechnet er die Muskelsubstanz im allgemeinen, die Nerven, die Hornschicht, die roten Blutkörperchen (einfache konstante Reduktionsorte), die Kerne und Mastzellen als konstante Sauerstofforte. Die Muskelsubstanz und die roten Blutkörperchen geben nun eine deutliche Pseudoperoxydasenreaktion, die Hornschicht (Wolle) eine deutliche RW-Reaktion und ebenso der Achsenzylinder der Nerven (Kreibich, Berl. kl. W., 1913).

Gerade die Wolle aber zeigt, dass eine Substanz, die Methylgrün intensiv reduziert und sich mit diesem nicht färbt, doch methylenblauaffin sein kann, und daher die RW-Reaktion gibt. (Unna, Die Bedeutung des Sauerstoffs in der Färberei, S. 17 und 18.)

Diese ganze Gruppe der konstanten Reduktionsorte wird also nach den obigen Ausführungen aus dem System entfallen müssen, da die Peroxydaseorte nach den theoretischen Auseinandersetzungen Unnas zu den Sauerstofforten gehören.

Leukozytengranula sind nach den Winklerschen und meinen Untersuchungen sicher der Sitz oxydativer Synthese und der Aktivierung des H_2O_2 -Sauerstoffs. Gerade sie sind meiner Meinung nach Sauerstofforte, par excellence, wenn dieser Ausdruck seine Bedeutung behalten sollte. Und doch zeigen sie nach allen drei Reduktionsmethoden deutliche reduzierende Eigenschaften im Trockenaufstrich. Nimmt man nun dazu, dass Unna in seiner letzten Mitteilung (Medizin. Kl.¹⁾ das Affinitätsprinzip dafür verantwortlich macht, dass die Granula der Leukozyten mit RW I und II nicht reagieren, so ist damit auch eine Bresche in das stolze Gebäude der Oxypolarität von ihm selbst geschlagen, da ja die RW-Reaktion bestimmt war, die Oxydationsorte aufzudecken.

¹⁾ Damit kontrastiert die S. 4, Dermatol. Wochenschr., Bd. 54, gegebene Mitteilung, dass Leukozytengranulation und das Granulaplasma in „diesen“ Untersuchungen sich sehr reich an O erwiesen.

3. Sollte Unnas Methode RW I und II sich derart verbessern lassen, dass sie einwandsfreie Resultate gibt, oder durch neue Methoden die mikrochemische Lokalisation der hitzebeständigen Oxydase ermöglicht werden, da möchte ich für diese in Analogie zur Pseudoperoxydase den Ausdruck Pseudooxydase vorschlagen.

Das gemeinschaftliche Vorkommen der Oxydase und Peroxydase (Leukozytengranula) lässt es vermuten, dass auch Pseudooxydase und Pseudoperoxydase zusammen vorkommen und so gewinnen einzelne von Unnas Befunden sehr an Wahrscheinlichkeit, da sie die Lokalisation der „Pseudooxydase“ gestatten, ohne dass es möglich wäre, wegen Mangelhaftigkeit der RW-Methode Sicherheit und genaue Abgrenzung zu geben. Es wird eben die komplexe Eisenverbindung sowohl als Pseudooxydase als auch als Pseudoperoxydase wirken können, eine Ansicht, zu der Untersuchungen Madelungs eine chemische Grundlage geben. Damit würde der allgemein gehaltene unklare Ausdruck „Sauerstofforte“ sich erübrigen.

Jedenfalls ist aber die Darstellung der Leukofarbstoffe durch Rongalitreduzierung eine dankenswerte Bereicherung der histologischen Technik, wenn sie auch in der von Unna gedachten Richtung noch keinen vollkommenen Erfolg aufzuweisen haben. Die erste Frucht ist Kreibichs Färbung der marklosen Nervenfasern.

X. Einfluss der ultravioletten Strahlen auf die Pseudoperoxydase.

Der logischen Folge nach hätte dieser Abschnitt schon nach dem VI. Kapitel erscheinen müssen, doch musste die Besprechung der RW-Reaktion vorangehen, um an die Beringschen mit RW erhobenen Befunde anknüpfen zu können.

Kreibich hat mikrochemisch die Vernichtung der Oxydase und Peroxydase durch ultraviolettes Licht mittels dimethylparaphenylendiamin- α -Naphtol-Reaktion einerseits und der benzidinmonosulfosauere $n\text{Na} - \text{H}_2\text{O}_2$ -Reaktion andererseits nachgewiesen. Nach einviertel- bis einhalbstündiger Bestrahlung je nach der Stärke der Quarzlampe war eine Reaktion nicht mehr zu erzielen.

Gefriermikrotomschnitte konnten wegen ihrer ungleichmässigen Dicke und der Gefahr der Eintrocknung die Verlässlichkeit des Resultates in Frage stellen. Erst Paraffinschnitte, deren Gleichmässigkeit und Dünne einerseits, deren leichte Befestigung

an der Lampe andererseits einwandfreie Erfolge versprochen, ermöglichten es, den Einfluss des ultravioletten Lichtes auf die Pseudoperoxydase zu studieren. Versuche nach dieser Richtung liegen meines Wissens noch nicht vor.

Fr. Bering und H. Mayer bedienen sich der RW-Methode Unnas, um die Schädigung der Peroxydase durch Licht nachzuweisen, mit Beziehung auf Unnas Mitteilung, dass Oxydase und Peroxydaseorte zusammenfallen. Ein derartiger Schluss ist auf Grund der obigen Auseinandersetzungen nicht gestattet, da wir es ja in Gewebsschnitten nur mit Pseudoperoxydase zu tun haben. Es ist Bering strenge genommen nur erlaubt, auf Grund der bloss makroskopisch konstatierten nach ein- bis eineinhalbstündiger Bestrahlung auftretenden Abschwächung der Färbbarkeit nach RW-Einwirkung auf eine Abschwächung der Funktion der Pseudooxydase, welchen Ausdruck ich nach obigen Auseinandersetzungen verwende, zu schliessen. Eine Peroxydase, die durch Hitze-einwirkung zerstörbar ist, kommt nach meinen bisherigen Versuchen den Leukozytengranulis zu. Und diese dürften die Abschwächung der Färbbarkeit bei Betrachtung der Schnitte mit blossen Auge nicht veranlassen haben.

Vorausgesetzt, dass die Pseudooxydaseorte (Sauerstofforte Unnas) sich zum Teil wenigstens (für das Kernchromatin nicht unwahrscheinlich) mit absoluter Sicherheit feststellen lassen, dann können Berings Untersuchungen in diesem Sinne gedeutet werden.

Zu meinen Untersuchungen wurden ca. 6—8 μ dicke Schnitte auf die beiden Enden des Objektträgers mit 50% Alkohol in der üblichen Weise aufgeklebt, dann ein Schnitt mit Stanniol umhüllt, und der Objektträger mit Heftpflasterstreifen an das Fenster der Quarzlampe befestigt, so dass der eine mit Stanniol nicht bedeckte Schnitt dem Weisslicht derselben ausgesetzt, der andere aber durch Stanniol vor den Strahlen geschützt war. Bestrahlungsdauer ein bis zwei Stunden.

In allen Fällen zeigte es sich, dass die Pseudoperoxydasereaktion des Kerns nach Bestrahlung im Vergleich zum Kontrollschnitt wesentlich abgeschwächt war. Auch trat die Bläunung in bestrahlten Präparaten später auf (Mausschnauze, Niere, Nebenniere).

Über die Veränderungen des Plasmas werde ich an anderer Stelle berichten (Nisslschollen, Granula der Mastzellen).

Gleiche Veränderungen an den Kernen erzielte ich an Trockenaufstrichen von roten Blutkörperchen.

Über die stärkere Färbbarkeit ihres Leibes mit Eosin nach 1—2 stündiger Quarzlampenbestrahlung, die herabgesetzte Färbbarkeit ihres Kerns für Hämatoxylin wird nach Abschluss der Versuche an anderer Stelle berichtet werden.

Auffallend war mir auch die Erscheinung, dass auf der bestrahlten Hälfte des Froschblutpräparates (auch an Menschenblutpräparaten) die roten Blutkörperchen sofort durch die Bestrahlung fixiert erscheinen, während die unbestrahlten sich in den Färbeflüssigkeiten auflösten.

Es würde den Rahmen dieser nur den intrazellulären oxydativen Enzymen gewidmeten Arbeit überschreiten, sollte auf diesen Punkt hier näher eingegangen werden.

Es scheint, als ob die ultravioletten Strahlen die Eisenverbindung, die sehr wahrscheinlich zur Pseudooxydase und Pseudoperoxydase in engster Beziehung stehen, zersetzten und so die Färbbarkeit schädigten. Der Nachweis anorganischen Eisens nach 2 stündiger Bestrahlung ist nicht gelungen.

Die Verlängerung der Bestrahlungszeit ist in Aussicht genommen. Blausäure 1:1000 hatte eher einen fördernden, Cyankali 1:10.000 keinen hemmenden Einfluss auf die Reaktion an Gewebsmastzellen. Die Braunfärbung der Mastzellengranula im letzteren Falle erklärt sich durch die alkalische Reaktion der Cyanverbindung.

XI. Die erste Peroxydasereaktion.

Wenn ich nun auf meine ersten Angaben zurückschaue, auf das als Reagens empfohlene benzidinmonosulfosäure $\text{Na} + \text{H}_2\text{O}_2$ und Kreibichs Modifikationen der Reaktionsflüssigkeit, und die damit gewonnenen Resultate, so ergeben sich kleine Differenzen, die der Überprüfung bedürfen.

Kreibich konnte im Gegensatz zu mir mit seiner Modifikation weder eine Kernreaktion, noch eine Reaktion des Lymphocytenleibes, noch eine Färbung der Gewebsmastzellen ¹⁾ nachweisen. Kreibich hat aber mit verändertem Reagens gearbeitet, da das zuerst von mir benutzte nicht wieder zu erlangen war. Sein

¹⁾ Diese habe ich jetzt erst mit Hilfe der Tolidinmethode nachgewiesen.

Reagens enthielt reine Salzsäure- (in Alkohol) und Benzidinzusatz. Die von ihm hergestellten mikroskopischen Aufstrichpräparate sind im Gegensatze zur jetzigen Methode haltbar. Aus meinen systematischen jetzigen Versuchen geht deutlich hervor, welchen Einfluss Säueren, z. B. die Oxalsäure und die schon bei der ersten Methode benutzte CO_2 auf den Ausfall der Reaktion hat. Versuche nach dieser Richtung sollen fortgesetzt werden. Ich möchte daher, da mein erstes Präparat nicht mehr hergestellt wird, unterscheiden: a) die Reaktion mit monobenzidinsulfosauerem Natron + Benzidin + alkohol. $\text{HCl} + \text{H}_2\text{O}_2$ (Fischel, Kreibich) für hämatologische Untersuchungen geeignet (Laboratorium Adler in Karlsbad); b) Tolidinreaktion (Fischel) für Untersuchung der Gewebe und hämatologische Zwecke.

Noch muss ich eines gegensätzlichen Befundes erwähnen zwischen meiner ersten Mitteilung und dieser Arbeit.

An Leberaufstrichtrockenpräparaten war nach dem Kochen die Reaktion mit monobenzidinsulfosauerem $\text{Na} + \text{H}_2\text{O}_2$ nicht mehr nachweisbar, so dass ich glaubte, es in den Kernen mit einer hitzeunbeständigen Peroxydase zu tun zu haben. Wenn man bedenkt, dass Trockenaufstriche an und für sich unregelmässige Resultate geben (Kap. IV) und in Betracht zieht, dass bei Gefrierschnitten z. B. nach dem Kochen ein höherer H_2O_2 -Zusatz zur Hervorrufung eines positiven Resultates notwendig ist, so mögen diese Umstände vielleicht dazu beigetragen haben, zu dieser jetzt als Fehlmeinung erkannten Anschauung zu gelangen.

Auch muss hier noch auf einen Umstand hingewiesen werden. Auf die Zersetzlichkeit des damaligen Präparates. Da die Untersuchungen an an hohen Temperaturen ausgesetzten Gewebsaufstrichen gegen das Ende der ersten Arbeit fielen, so mag das farbschwächere Präparat an dem schwerer reagierenden gekochten Gewebe weniger wirksam gewesen sein.

XII. Einteilung der intrazellulären Oxydationsfermente.

Um die bisherigen Resultate der mikrochemischen Forschung der Oxydationsfermente überhaupt zu übersehen und meine Resultate zu diesen in Beziehung zu bringen, wird sich am besten die Klassifizierung dieser Enzyme empfehlen.

Wir haben gesehen, dass die Peroxydase der einzelnen Gewebselemente auf Temperatureinflüsse verschieden reagiert.

Leukozytengranulaperoxydase wird durch Kochen zerstört. Trockene Hitze wirkt abschwächend, bei 130° zerstörend.

Die Peroxydase des Chromatins der Leukozyten ist gegen Kochen resistent, ebenso die Chromatin der übrigen Gewebe.

Trockene Hitze von 160°—180° zerstört sie bei längerer Einwirkung. Die Peroxydase des Hämoglobins wird auch durch diese Temperaturen nicht vernichtet.

Aber auch bezüglich der Quantität des H₂O₂-Zusatzes sind uns Differenzen der einzelnen Gewebselemente aufgefallen.

Die Peroxydase der Leukozytengranula begnügt sich schon mit einem Minimum von H₂O₂. (Hunderttausendstel bis millionstel Gramm.)

Die Kernperoxydase spricht erst bei höherer Konzentration an. Die Hämoglobinperoxydase bei noch höheren Konzentrationen, denn oft sind die Kerne schon gefärbt, die roten Blutkörperchen ungefärbt.

Genaue Zahlenangaben lassen sich hier schwer beibringen, da sich der Einzelfall verschieden verhält.

Die vorläufige Einteilung, die nur mikrochemischen Zwecken auf Grund des vorliegenden Materials dienen soll, würde sich folgendermassen gestalten:

Oxydase:

1. Plasmagranula Oxydase (Gierke) ausserordentlich empfindlich gegen Formol Autolyse, Alkalien etc.
2. Leukozytengranulaoxydase (Winkler), Speicheldrüsengranulaoxydase (Schultze) resistenter gegen Formol, Autolyse. Bei 100° zerstörbar (kochen).
3. Pseudooxydase (Fischel-Unna) gegen 100° (kochen) resistent. Kern und Plasma.

Peroxydase:

1. Leukozytengranulaperoxydase (Fischel) bei 100° (kochen) zerstörbar.
2. Chromatin-Plasma-pseudoperoxydase gegen Kochen 100° resistent; bei 180° Trockenhitze vernichtet (Fischel).
3. Hämoglobinpseudoperoxydase (Buckmaster) gegen Trockenhitze 180° resistent.

Diese Einteilung hat nur einen provisorischen Wert, und kann durch genaue Durcharbeitung (Temperatureinwirkung etc.) gewiss erweitert werden. Neue Methoden werden unsere Kenntnis gewiss erweitern. Insbesondere aber sei Madelungs einheitliche Auffassung der Peroxydasen hervorgehoben; da sich ja auch in unseren Versuchen nur graduelle Verschiedenheiten bezüglich der Temperaturresistenz und H_2O_2 -Zusatz ergeben haben, Differenzen, die durch die Labilität der eisenhaltigen Komplexe erklärt werden könnten. Doch ist es immerhin denkbar, dass andere Stoffe mit wechselnder reversibler Oxydationsstufe solchen Peroxydasen als Basis zugrunde liegen.

Wir können daher dem Eisen mit allergrösster Wahrscheinlichkeit, nicht aber mit absoluter Sicherheit eine Rolle bei den „fermentativen“ Oxydationen zuschreiben.

XIII. Technische Bemerkungen.

Die bereits erwähnten unliebsamen Erfahrungen, die ich mit dem benzidinmonosulfosauerem Natron gemacht habe, veranlassten mich, mir Tolidin ausser von Merk noch von Kahlbaum zu verschaffen. Letzterer sandte ein Präparat „Orthotolidin käuflich“, das sich äusserlich vom ersten Merkschen Präparate unterscheidet; es ist gröber geballt, hat einen Stich ins Rötliche. Doch gibt es ganz brauchbare Resultate. Da ich aber einmal von Merk ein weniger geeignetes Tolidin-Präparat bezog, so hat dieser auf mein Ersuchen ein Präparat: Tolidin für histologische Zwecke hergestellt, das von konstanter Zusammensetzung ist und nach der von mir vorgenommenen Prüfung alle Bedingungen der Reaktion erfüllt.

Was die Haltbarkeit des Präparates betrifft, so hat eine mit CO_2 versetzte heiss gesättigte wässerige Lösung noch nach 3 Monaten gute Resultate ergeben. Mit dem am 7. Oktober 1912 eingesandten Tolidinpulver war am 27. März 1913 eine einwandfreie Leukozytenreaktion zu erzielen.

Tolidin in $NaCl$ -Lösung (oder wässriger Lösung) mit CO_2 und mit H_2O_2 versetzt konnte von uns probeweise noch nach 3—4 Tagen mit Erfolg verwendet werden;¹⁾ jedoch rate ich zu wissenschaftlichen Untersuchungen stets frisch angefertigte

¹⁾ in offener Epronette aufbewahrt.

Lösungen zu benützen. Länger als 24 Stunden alte Lösungen habe ich nur ausnahmsweise benutzt.

Dass die Pseudoperoxydase bei Leukozytenpräparaten (Aufstrich gonorrhöischen Sekretes) in Formalindämpfen (im Exikator) sich monatelang hält, aber auch bloss lufttrocken bei vor Staub und Licht geschützter Aufbewahrung (Kap. X), war vorauszusetzen. In Alkohol konserviertes Gewebe dürfte durch mehrere Jahre seine Reaktionsfähigkeit behalten. So hat ein Stück eines Granuloms eines Myeosis fungoides nach 20jähriger Aufbewahrung in Alkohol positive Pseudoperoxydasen-Reaktion gegeben.

Empfehlenswert ist es, wie wir schon betont, zur Sicherheit bei negativer Gewebsreaktion Gonorrhöeaufstriche als Kontrolle vorrätig zu haben. Diese haben mir nie versagt.

Die Verwendbarkeit der Methode ergibt sich von selbst. Da sich von den braunen Granulis die blauen Gonococcen (gekochte Präparate) sehr schön abheben, so ist die Frage einer neuen Methode zum Gonococcennachweis in Betracht zu ziehen.

Noch halte ich es für notwendig, mit einigen Worten auf die O. und R. Adlersche Benzidinblutreaktion einzugehen. Da Kern und unter Umständen Plasma der Gewebszellen ebenso wie Blut Pseudoperoxydasenreaktion geben, so erhebt sich die Frage, ob das Kernchromatin nicht auch bei der Adlerschen Reaktion einen positiven Blutnachweis vortäuschen könnte. Ich brauche aber hier nur auf die Arbeit von Bardachzi hinzuweisen, der bei der Ausführung der Benzidinprobe im Stuhl sich bei zahlreichen vergleichenden Bestimmungen überzeugen konnte, dass die unter gleichen Kautelen vorgenommene Reaktion beim Gesunden negativ ausfiel.

Damit scheint für klinische Verhältnisse erwiesen, dass die Kern- und Plasmapseudoperoxydase, die von den Darmepithelien der unteren Darmabschnitte stammen könnte, die Adlersche Blutprobe nicht beeinflusst.

XIV. Ergebnisse.

Mit Hilfe des Systems Tolidin H_2O_2 (bezw. Benzidin) ist in den neutrophilen Granulationen durch Braunfärbung der Granula das Vorhandensein einer bei 100^0 zerstörbaren Peroxydase zu erbringen. In gleicher Weise an der Gruppe der myeloiden Zellen: an den eosinophilen und Myelozyten.

In den Kernen der Gewebszellen liessen sich meist auf das Chromatin und das Kernkörperchen beschränkte Reaktion durch Blaufärbung nachweisen. Die Peroxydase (Pseudoperoxydase) ist gegen Kochen resistent.

Auch in den Granulis der Gewebsmastzellen, dem Plasma der Lymphozyten, Plasma der drüsigen Epithelien, der Drüsenausführungsgänge, der Knorpelgrundsubstanz und der Nisslschollen ist eine gegen Kochen resistente Peroxydase auffindbar.

Zum Unterschied der im Hämoglobin nachweisbaren Hämoglobinpseudoperoxydase wäre die Peroxydase des Chromatins und Plasmas als Chromatin bzw. Plasmapseudoperoxydase zu bezeichnen.

Die Reaktion des Systems muss eine Spur sauer sein, die Abstufung der Acidität bzw. Neutralisierung und Alkalisierung hat verschiedene Resultate zur Folge und ist bei wissenschaftlichen Untersuchungen zu berücksichtigen.

Auch die Variierung der H_2O_2 -Konzentration ist von bedeutendem Einfluss auf die Reaktion und bei wissenschaftlicher Zellforschung nicht zu unterlassen.

Die Reaktion lässt sich auch an Paraffinschnitten durchzuführen. Vielleicht gelingt es auch durch entsprechende Regelung der Temperatur des Paraffinofens und kurzem Aufenthalt in demselben die gegen hohe Temperaturen (trockene Erhitzung bis 130°) wenig empfindliche Peroxydase der Granula von Leukozyten auch in Paraffinschnitten zu erhalten. Katalase ist unter Umständen noch in Paraffinschnitten nachweisbar.

Ultraviolette Strahlen schwächen die Pseudoperoxydase-reaktion des Kernes bei längerer Einwirkung wesentlich ab.

Blausäure (1 : 1000) und Cyankali (1,0 : 10 000) vernichten die Pseudoperoxydase nicht. Der negative Ausfall am Trockenpräparat oder Gefrierschnitt an supravitalen Gewebe darf nicht als beweisend angesehen werden, da uns noch unbekannte hemmende Einflüsse sie verhindern können.

Kerne embryonalen Gewebes (Leber) reagieren positiv.

Soll die Rongalitweissmethode wissenschaftlich einwandfreie Resultate geben, bedarf sie einer Verbesserung.

Die durch sie mit grösster Wahrscheinlichkeit in dem Kern nachgewiesene hitzebeständige „Oxydase“ ist als Pseudooxydase analog der Pseudoperoxydase zu bezeichnen.

Komplexe Eisenverbindungen spielen bei der Wirkung der intrazellulären oxydativen Fermente mit grösster Wahrscheinlichkeit eine bedeutende Rolle.

Literaturverzeichnis.

1. Adler, O. und R.: Über das Verhalten gewisser organischer Verbindungen gegenüber Blut. Zeitschr. f. phys. Chemie, 1904, Bd. XLI, S. 59.
2. Batelli und Stern: Die Oxydationsfermente. Erg. d. Phys., 12. Jahrg., 1912, S. 96.
3. Dieselben: Über die Peroxydasen der Tiergewebe. Biochem. Zeitschr., 1908, 13. Bd., S. 44.
4. Bardachzi: Zur Untersuchung des Stuhles auf occ. Blutungen. Wiener med. Wochenschr., 1912, Nr. 41.
5. Bering, Fr. und Mayer, H.: Experimentelle Studien über die Wirkung des Lichtes. Strahlentherapie, 1912, Bd. I, H. 4, S. 411.
6. Buckmaster: The behaviour of blood and haemato porphirin towards alcoholic solutions of guojaconic acid etc. Journ. of Phys., 1907, 35, Bd. 35.
7. v. Cyhlarz und v. Fürth: Über tierische Peroxydasen. Beitr. zur chem. Phys. u. Path., 1907, X. Bd., 358.
8. Dietrich: Naphtholblausynthese und Lipoidfärbung. Zentralbl. f. Path., 1908, 19. Bd., S. 3.
9. Ebner-Kölliker: Handbuch der Gewebelehre.
10. Fischel, R.: Vereinsber. Prager med. Wochenschr., 1910, Nr. 29.
11. Derselbe: Der histochemische Nachweis der Peroxydase. Wiener klin. Wochenschr., 1910, Nr. 44.
12. Gierke: Über oxydierende Zellfermente. Münchener med. Wochenschr., 1911, Nr. 44.
13. Krause, R.: Kursus der normalen Histologie. Urban und Schwarzenberg, Berlin-Wien 1911.
14. Kreibich, C.: Über Oxydasen und Peroxydasen. Wiener klin. Wochenschrift, 1910, Nr. 41.
15. Derselbe: Zur Wirkung des ultravioletten Lichtes auf intrazelluläre Fermente. Arch. f. Dermat. u. Syph., 1912, CXIII, S. 529.
16. Derselbe: Färbung der marklosen Hautnerven beim Menschen. Berliner klin. Wochenschr., 1913, Nr. 12.
17. Mac Callum: Die Methoden und Ergebnisse der Mikrochemie in der biologischen Forschung. Erg. d. Phys., 1908, 7. Jahrg., S. 552.
18. Madelung: Über die Beziehung der Hämoglobinderivate und Peroxydasen zu anorganischen Katalysatoren. Zeitschr. f. phys. Chemie, 71. Bd., H. 3, S. 204.
19. Moitessier: Sur le rôle de la peroxydase dans le réactions colorées obtenues avec le sang. Soc. de Biol., 1904, 57. Bd., S. 373.

20. Röhm ann, F. und Sham ine, T.: Komplexe Verbindungen von Ferrosalzen und Eiweißstoffen. Biochem. Zeitschr., 1912, 42. Bd., 4. H.
21. Schlenk: Annalen der Chemie und Pharmakologie, 1908, Bd. CCCLXIII, S. 313 (zitiert nach Madelung).
22. Schultze: Die Oxydation an Gewebsschnitten und ihre Bedeutung für die Pathologie. Zieglers Beiträge, 1909, 45. Bd., S. 127.
23. Spitzer, W.: Die Bedeutung gewisser Nucleoproteide für die oxydative Leistung der Zelle. Pflügers Arch., 1897, 67. Bd., S. 615.
24. Unna, P. G.: Zur Chemie der Haut III. Monatsh. f. prakt. Dermat., 1909, Bd. 48, S. 83, Taf. II.
25. Derselbe: Die Darstellung der Sauerstofforte im tierischen Gewebe. Med. Kl., 1912, Nr. 22, S. 951.
26. Derselbe: Die Reduktionsorte und Sauerstofforte des tierischen Gewebes. Arch. f. mikr. Anat., 1911, Bd. 78, S. 1.
27. Unna und Golodetz: Zur Chemie der Haut. VI. Hautreagentien. Monatsh. f. prakt. Dermat., 1910, Bd. 50, S. 451.
28. Dieselben: Die Verteilung des Sauerstoffes und der Sauerstoffelemente in der Haut. Dermat. Wochenschr., 1912, 57. Bd., S. 2.
29. Dieselben: Die Bedeutung des Sauerstoffes in der Färberei. Leopold Voss, 1912, Leipzig und Hamburg.
30. Vernon: Die Abhängigkeit der Oxydasewirkung von Lipoiden. Biochemische Zeitschr., 1912, 47. Bd., S. 374.
31. Willstätter und Kolb: Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XXXIX, S. 3476, 1906.
32. Willstätter und Piccard: Ber. d. Deutsch. chem. Ges., Bd. XLI, S. 3245, 1908 (zitiert nach Madelung).
33. Winkler, F.: Der Nachweis von Oxydasen in den Leukozyten mittels der Dimethylparaphenylendiamin- und Naphtolreaktion. Fol. Hämatol., 1907, Bd. IV, S. 323.
34. Wolff, J.: Sur quelques peroxydases artificielles etc. Compt. rend., 1908, 146. Bd., S. 781.
35. Wolff et de Stoecklin: Contribution à l'étude des enzymes oxydantes. Anal. de l'Institut Pasteur, 1909, Vol. 23, S. 341.
36. Zuckerkandl: Über Zytodiagnostik des Colostrums. Wiener klin. Wochenschr., 1905, Nr. 33.



Aus dem Anatomischen Institut zu Kanazawa, Japan.

Über Mitochondrien (Chondriokonten) und mitochondriale Stränge (= sog. Eberth'sche intrazelluläre Gebilde) in den Epidermiszellen der Anurenlarven nebst Bemerkungen über die Frage der Epidermis-Cutisgrenze.

Von

Sakae Saguchi.

Hierzu Tafel VIII—XII und 5 Textfiguren.

Inhalt:

	Seite
I. Einleitung	178
II. Historische Übersicht der Angaben, die bisher über die sogenannten Eberth'schen intrazellulären Gebilde und ähnliche Zellstrukturen beschrieben wurden	178
III. Untersuchungsmaterial und -technik	185
IV. Eigene Beobachtungen	186
1. Mitochondrien bzw. Chondriokonten in den embryonalen und larvalen Epidermiszellen vor dem Erscheinen der sogenannten Eberth'schen intrazellulären Gebilde	186
2. Die Entstehung der mitochondrialen Stränge (= der sog. Eberth'schen intrazellulären Gebilde)	191
A. Erstes Stadium	191
B. Zweites Stadium	192
3. Beschreibung über die mitochondrialen Stränge in den Epidermiszellen an den verschiedenalterigen Larven	198
A. 1,4 cm lange Larven	198
B. 2 cm lange Larven	206
C. 4,5 cm lange Larven	208
D. Larven, an denen die hinteren Extremitäten gut entwickelt sind	210
E. Larven, an denen die vorderen Extremitäten noch im Kiemensack verborgen, doch dem Durchbruch nahe sind	212
F. Verhalten der mitochondrialen Stränge bei der Mitose	216
G. Kritische Bemerkungen	217
4. Über die Frage der Epidermis-Cutisgrenze	229
A. Eigene Beobachtungen	229
B. Literatur und kritische Bemerkungen	237
V. Zusammenfassung	239
VI. Literaturverzeichnis	242
VII. Figurenklärung	244

I. Einleitung.

Die eigentümliche, fädige Substanz in den Epidermiszellen der Anurenlarven, die von Mitrophanow nach dem Namen ihres ersten Entdeckers die Eberth'schen intrazellulären Gebilde genannt wurde, ist das Problem von vielfachen Kontroversen geworden, die auch heute noch keineswegs als erledigt gelten können. Sowohl ihrer Form wie besonders ihrer Bedeutung nach herrschen Meinungsverschiedenheiten unter den Autoren, die diese Gebilde beobachteten. Dies dürfte wohl die Folge davon sein, dass die einzelnen Autoren verschiedene Entwicklungsstufen der Larven untersuchten und dass die Methoden, besonders die Färbungsverfahren, die dafür angewandt wurden, zu dürftige waren, um die Sache definitiv zu entscheiden. Ich hoffe, dass ich in der vorliegenden Untersuchung, in der die Gebilde von ihrem ersten Erscheinen bis zum Verschwinden verfolgt, und für deren Darstellung, glaube ich, noch bessere Färbungsmethoden angewandt wurden, als es bisher geschehen war, bessere Aufschlüsse geben kann. Auch wurde die Frage über die Epidermis-Cutisgrenze hierbei berücksichtigt, deren entwicklungsgeschichtliche Aufklärung für das Problem der Verbindung zwischen Epidermis und Cutis von grösster Bedeutung ist.

II. Historische Übersicht der Angaben, die bisher über die sog. Eberth'schen intrazellulären Gebilde und ähnliche Zellstrukturen gemacht wurden.

Zuerst fand Eberth (3) im Jahre 1866 in den Zellen der unteren Epidermislage von jungen Fröschen eigentümliche, glänzende Körper; er schreibt darüber folgendes: „Die Zellen der unteren Epidermislage, die meist von keulenförmiger Gestalt sind und mit ihren spitzen Enden der Cutis aufsitzen, enthalten sehr sonderbare und bis jetzt nirgends beschriebene Gebilde. Sie sind nur dieser Zellschicht eigen und finden sich nie in dem äusseren Stratum. Diese Körper bestehen aus einer glänzenden, homogenen, colloid-ähnlichen, von Reagentien schwer angreifbaren, ziemlich festen Substanz. Sie ist ein Abscheidungsprodukt des Zellprotoplasmas, das meist in der Umgebung des Kernes zuerst auftritt. Die Gestalt, unter der diese Masse erscheint, ist bald die feiner, leicht gebogener Spindeln in einfacher oder mehrfacher Zahl, bald die von Stäben, dann wieder die von geschlossenen oder offenen runden und länglichen Ringen und grösseren kugeligen Ballen. Statt dieser findet man auch häufig stärkere einfache Fäden mit peitschenförmigem Anhang oder mehrfach geteilte, gewundene und verschlungene feinere und gröbere Fäden. An vielen dieser Körper erkennt man eine hellere,

stärker lichtbrechende Rinde und eine weniger glänzende Achsensicht. Andere scheinen wieder aus feinen, leicht geschlängelten Fibrillen zu bestehen und zerfasern sich gegen das äussere Ende.“

Das erste Erscheinen dieser Körper beobachtete er an Froschlarven von $3\frac{1}{2}$ cm Länge. Sie fanden sich auf der ganzen Haut, am reichlichsten am Vorderleib. Das weitere Schicksal dieser Gebilde konnte er indessen nur unvollständig erforschen. Nur soviel sagt er, dass er diese Gebilde bei erwachsenen Tieren vollständig vermisst; bei ganz kleinen Fröschen fand er sie vereinzelt. Die Frage nach der Bedeutung dieser Gebilde musste er unbeantwortet lassen. Bloss vermutet er, dass es sich um verwandte Bildungen, wie sie in der Haut von Petromyzon vorkommen, handle.

Viel später sind die gleichen Gebilde von Leydig (12) beobachtet worden. Nach seiner Angabe sind diese Gebilde „in aller mannigfaltigster Weise geschlungen und gewunden, dabei von verschiedener Dicke; oftmals teilen sie sich gegen den Fuss der Zelle zu und lösen sich in Büschel feinsten Fäserchen auf. In den meisten Fällen überschreiten die Fäden den Saum der Zelle nicht; doch lassen sich auch Zellen ins Auge fassen, wo der Faden eine Strecke weiter hervorsteht. Haben die Fäden eine gewisse Dicke, so erweisen sie sich bei näherem Zusehen als eine Vereinigung feinsten Fäserchen.“

Nach ihm scheinen die Fäden in einem besonderen Raum der Zelle, in einem Sekretbläschen zu entstehen. Er ist der Meinung, dass diese Gebilde mit den in der Epidermis der Reptilien vorkommenden Klümpchen von unregelmässiger Gestalt und mattglänzendem Aussehen oder mit dem stark lichtbrechenden, bröckeligen und krümeligen Inhalt von einigen Epithelien der Schleimkanäle des Kaulbarsches, ferner noch mit den Epithelzellen des Fisches Myxine verwandt sein könnten. Ja er geht sogar noch weiter; er vergleicht die fraglichen Gebilde mit den Byssusfäden der Gastropoden oder den Nesselstrahlen der Zoophyten und bezeichnet die sie enthaltenden Zellen der Froschlarven als „Byssuszellen“. Nach seiner Meinung müssten also diese Zellen die Bedeutung von einzelligen Drüsen haben, die ein stark ätzendes Sekret auf die Hautoberfläche abscheiden.

Einige Jahre später beobachtete Pfitzner (20) ähnliche Gebilde ebenfalls in den Epidermiszellen der Froschlarven, und zwar nicht nur in den Basalzellen, sondern auch in den oberflächlichen Zellen. Nach seiner Beschreibung, welcher die durch die Goldmethode erhaltenen Resultate zugrunde liegen, verlaufen die Fäden — so nannte er diese Gebilde — entweder annähernd gestreckt oder biegen dicht an der oberen Zellgrenze um, um sich wieder mehr der Basis zu nähern; ja sie können dann noch eine zweite Krümmung erleiden, so dass das Endstück wieder nach oben gerichtet ist. Der Faden endet mit einer leichten knopfförmigen Anschwellung, während er bis dahin eine gleichmässige Dicke und drehrunde Gestalt besitzt.

Im Gegensatz zu den oben genannten Autoren hält Pfitzner die Fäden merkwürdigerweise für Nervenendigungen, von denen jede Zelle mit zwei Ästen versorgt wird. Er glaubte sie bei günstigen Fällen durch das Korium ins Unterhautbindegewebe, ja sogar bis zur markhaltigen Nervenfasern verfolgt zu haben.

Canini (1), der sich, wie Pfitzner, der Goldmethode bediente, erkennt in der tieferen Lage der Epidermis des Froschlarvenschwanzes die von Pfitzner beschriebenen Gebilde wieder; doch konnte er die Regelmässigkeit, die Pfitzner über die Form und Zahl jener Gebilde angibt, nicht finden. „Ich bemerkte“, sagt er, „zwar auch einzelne Zellen, in denen die Gebilde ungefähr der Pfitznerschen Beschreibung entsprechen, aber in der ungeheuren Mehrzahl tun sie nicht so.“ Nach ihm müssen diese Gebilde sehr verschiedentliche und verwickelte Formen haben, so dass Worte nicht genügen, um von diesen bizarren Formen einen Begriff zu geben. Er seinerseits drückt die Meinung aus, dass seine Präparate der Zeichnung Eberth's am nächsten stehen.

Obleich dieser Autor fand, dass die feinen Fäden, von dem breiten, die ganze Basis der Zelle einnehmenden Fuss der Gebilde angefangen, durch das Korium hindurchtreten, sich unterhalb desselben in zwei oder drei Äste teilen und auf diese Weise einen Plexus bilden, wagte er auf Grund solcher Befunde doch nicht, den Fäden die nervöse Natur beizumessen, wie dies Pfitzner tat.

In den ergänzenden Bemerkungen zu vorstehender Arbeit Caninis suchte J. Gaule (1) diese Gebilde mit den peripheren Nervenfasern in Verbindung zu setzen. Er geht von der bekannten Hypothese Hensens über die Entwicklung der peripheren Nerven aus und glaubt, dass ein sekundärer Nervenplexus, der aus dem Nervengitter Eberth's hervorgegangen ist, jene Fäden, die nach Canini von den Füßen der intrazellulären Gebilde ausgehen und das Korium durchsetzen, aufnimmt, und dass die Ästchen, welche die Fäden an ihren unteren Enden abgeben, eben einen Teil des sekundären Plexus darstellen. Damit wäre der Gesamtverlauf der Nerven bis zu den intrazellulären Gebilden verständlich; doch ist ihm vor allem nicht klar, „ob alle Nerven in die intrazellulären Gebilde übergehen“, ebenso ist ihm ungewiss, „ob sie in denselben wirklich enden und nicht vielleicht nur hindurchgehen?“ Ja, er setzt sogar hinzu: „Was die Hauptsache ist, die Erkenntnis der Bedeutung der intrazellulären Gebilde scheint mir noch keineswegs gefördert“.

Mitrophanow (18) widerlegt die Behauptungen Pfitzners und Caninis über die nervöse Natur der intrazellulären Gebilde. Da er durch die Goldchlorid-Ameisensäuremethode den subcutanen Nervenplexus und im Zusammenhang mit ihm die interepithelialen Nervenendigungen mit Endknöpfchen elektiv zu färben vermochte, dagegen die intrazellulären Gebilde farblos bleiben sah, so ist er der Meinung, dass das Bild, das Pfitzner für die Nervenendigungen hält, durch die ungenügende Methode verursacht wäre, und dass die Fäden, die Canini beschreibt, nichts anderes als senkrechte Fasern der Basalmembran seien.

Was ferner die Resultate seiner Untersuchung über diese Gebilde betrifft, so findet er sie im grossen und ganzen in Übereinstimmung mit der Beschreibung von Eberth. Wie die Befunde aber zu deuten seien, weiss er nicht. Nur fügt er hinzu: „Gewiss haben wir es hier mit einem von den rätselhaften Gebilden, von welchen auch Leydig spricht, und welche in anderen Fällen unter verschiedenen Namen (Nebenkern, Dotterkern usw.) beschrieben worden sind, zu tun“.

Kölliker (8) fand ebenfalls an den Batrachierlarven die uns interessierenden Gebilde und behauptet auf das bestimmteste, dass die von Pfitzner beschriebenen Formen nur für ganz vereinzelte Fälle passen; dagegen hält er die von Eberth abgebildeten Formen für gewöhnlich, und fand er sogar in der Rumpfigegend noch verwickeltere Formen. In betreff ihrer Bedeutung spricht er nichts anderes aus, als dass „dieselben einen eigentümlich geformten Zellinhalt von unbekannter chemischer Beschaffenheit und Funktion darstellen“.

Frenkel (5) hält wie Pfitzner die intrazellulären Gebilde für die Nervenendigungen; doch nimmt er in betreff der Entstehungsweise derselben eine ganz besondere Stellung ein. Da in der Epidermis der Froschlaven (er untersuchte *Rana esculenta* und *temporaria*), meint er, zweierlei Vorgänge nebeneinander verlaufen: einerseits die Zellen fortwährend aus dem Organismus durch Abstossung entfernt und andererseits neue Zellen gebildet werden, so müssen bei diesem Neubildungs- und Untergangsvorgang die Zellen von innen nach aussen sich verschieben und dabei eine gewisse Umbildung der Zellkerne vor sich gehen. So sagt er: „Mit dieser Umbildung des Kernes steht die Verschiedenheit der Figuren im Zusammenhang, so dass die verschiedenen Figuren als verschiedene Stadien der Umbildung einer Grundfigur erscheinen. Umbildung der Zelle, Umbildung des Kernes und Umbildung der Figur sind Teile eines und desselben Vorganges.“ Weiter heisst es: „... in einem gewissen Lebensstadium des Kernes entwickelt sich die Differenzierung der Randschichten desselben zu kugeligen aneinander liegenden Körpern. Diese Randschicht ist das spätere intrazelluläre Gebilde. Indem sie sich chemisch verändert, nimmt sie immer mehr die Reaktion der erwähnten Gebilde an, trennt sich von dem Rest des Kernes und gleicht dann durchaus in ihrem Verhalten denjenigen Figuren, die wir in einem gewissen Zustand mit Nerven in Berührung gefunden haben. Die intrazellulären Gebilde sind also nicht von Anfang an in der Zelle vorhanden, sie entstehen aus dem Kern, und sie entstehen, wenn dieser Kern sich umbildet, wenn mit dem Wachstum eine Vermehrung der Zellen und Zellschichten eintritt.“ Um die Frage: „Was ist aber der Sinn einer solchen Differenzierung und Abtrennung der Randschicht des Kernes zu einem besonderen Gebilde?“ zu beantworten, musste er zunächst Gewicht auf die Tatsache legen, dass die Gebilde mit den Nerven in Zusammenhang stehen. Und er ist der Meinung, dass die Zelle als Ganzes mit dem Nerven zusammenhänge, als Elementarorganismus, in den nicht ein anderer hineinragt wie mit einem Haken, um ihn zu dirigieren. Aber wenn die Zelle eben ein partielles Absterben erleidet, wie es nach seiner Ansicht bei der Organisations- und Lageveränderung der Zelle vorkommt, da sondern sich in ihr bestimmte Substanzen aus, die zu dem Nerven in besondere Beziehung treten, und die Ansammlung dieser Substanzen bildet eben das intrazelluläre Gebilde; durch diese Gebilde werden die Zellen, die nach oben sich verlagert haben, mit dem von diesen Zellen weit entfernten Nervenplexus verbunden, und weiterhin können diese Gebilde selbst zu Nerven sich umbilden.

In einer in demselben Jahre erschienenen Arbeit beschreibt Macallum (14), dass die Eberth'schen Figuren nicht nur in den Basalzellen, sondern

auch in den darauf liegenden Zellen vorkommen können. Die in der Erlickischen Flüssigkeit fixierten und mit Nigrosin vorbehandelten Schnitte färbte er mit Safranin; dadurch gelang es ihm, die inter- und intrazellulären Nervenendigungen gleichzeitig mit den Eberth'schen Figuren zu tingieren. Er erwähnt auf Seite 61: „If sections stained with nigrosine are treated with a safranine-solution in the manner already indicated, it will be seen in a large number of cases that one or more red fibrils run to the axis of a figure of Eberth, which retains its deep stain. If a figure coils around a nucleus, a red fibril will be found to traverse the course of the coil. Most of these fibrils terminate in minute knoblike swellings within the body of the figure itself, or in one of its finer divisions.“ Was die Bedeutung der Eberth'schen Gebilde, die er als „sheaths for intracellular nerve terminations“ betrachtet, angeht, so äussert er die folgende Meinung: „... the cells of the intermediate and basal layers of the epithelium undergo vital processus much greater than those of the superficial layers or than those of the epithelium of the adult, ... and they almost wholly disappear when the vital energie of the cells containing them are spent, as, for example, at the commencement of resorption of the tail. Do these fact point to the supposition that the figures of Eberth protect the intracellular nerve fibrils from the vital processus, assimilatory or otherweis, of the vigorous cell?“

Cohn (2) entdeckte gelegentlich die den Eberth'schen Gebilden ähnlichen Fasern in der untersten Zellschicht der Proteusepidermis, die mit Eisenhämatoxylin behandelt war. Die Fasern stellen rippenartige Verdickungen dar, die der Grenzschiht der untersten Epithelzellen in ähnlicher Weise eingelagert sind wie die Langerhans'schen Netze der Leydig'schen Zellen.

Maurer (15) erwähnt in seiner Monographie nur kurz diese „eigentümliche fadenartige Bildung“ und bemerkt, dass sie in keiner Weise mit den Korbzellen der niederen Wirbeltiere (Ammocoetes) sich vergleichen lassen. Mit den intensiven Teilungsvorgängen, die an den sie enthaltenden, glashell erscheinenden Zellen auftreten, verschwinden die spiraligen Fäden im Zellkörper und kommen auch später nicht mehr in irgend welchen Epidermiszellen zum Vorschein.

Bei der Untersuchung über die Zellverbindungen bemerkten Schubert (26) wie Cohn in den basalen Epidermiszellen des Proteus, die nicht zu den Leydig'schen Zellen umgewandelt waren, eigentümliche Einlagerungen, die den von mehreren Autoren beschriebenen Eberth'schen Gebilden zu entsprechen scheinen. Nach seiner Beschreibung erfüllen sie „die basale Hälfte der Zellen fast vollständig, umfassen becherförmig den nach aussen von ihnen liegenden Kern und sind gegen das Corium zu meistens in mehrere zugespitzte Fortsätze geteilt, welche sich fast bis in die äussersten Spitzen der in das Corium sich einsenkenden Fortsätze der Zellen selbst erstrecken können“. Er hält es für sehr wahrscheinlich, dass diese Gebilde eine Art Stützelement für das weiche Protoplasma der basalen Epidermiszellen darstellen. Dabei betont er ausdrücklich, dass „die Eberth'schen Gebilde der Epidermiszellen die Grenze des Coriums nicht erreichen und dass daher eine Verbindung der elastischen Fasern mit diesen Elementen ausgeschlossen ist“.

Neuerdings hat Studnička (28) in seiner monographischen Arbeit über die Epidermis der Vertebraten die hier in Frage stehenden Gebilde bei den von ihm untersuchten Anurenlarven gefunden. Er beschreibt sie als „dicke, an Eisenhämatoxylinpräparaten durch ihre dunkle Färbung besonders auffallend hervortretende Fibrillenzüge, die immer in gewisser Entfernung von der minimal dünnen Zellmembran im Innern des locker, und zwar etwas retikulär gebauten Protoplasmas verlaufen und sich dabei immer auf den Bereich einer einzelnen Zelle beschränken. Mit ihrem einen Ende befestigen sich die Fibrillenbündel im Niveau der Basalfäche der Zelle an das Corium, sie umschreiben im Innern der Zelle eine Schlinge und endigen mehr oder weniger deutlich (ob alle von ihnen, kann ich nicht entscheiden) wieder an der Basalfäche der Zelle. Fast immer kommen in einer Zelle mehrere solche Bündel, manchmal . . . sogar eine grosse Menge von solchen vor“. Auch schreibt er: „Die Fibrillenbündel . . . spalten sich in dünne Äste und verflechten sich auf mannigfaltige Weise, wobei sie ihre Selbständigkeit ziemlich zu bewahren suchen. Die einzelnen Fibrillenbündel setzen sich mit kegelförmig verbreiteten Enden, in denen sich die Elementarfibrillen etwas voneinander entfernen, an der Basalfäche der Zelle an.“

Über die Rolle, die diese Gebilde spielen sollen, spricht er sich dahin aus, dass es sich sicher um Tonofibrillen handelt, die nur zur Befestigung der einzelnen Basalzellen dienen, weil diese Fibrillengerüste nirgends untereinander sich verbinden. Es dient nach seiner Ansicht dazu, das Corium, das gerade im larvalen Zustande dieses Tieres minimal dick ist, auf irgend welche Weise in seiner Funktion zu stärken.

In neuester Zeit hat Loewenthal (13) ähnliche Gebilde in der Schwanzepidermis von 3,8 cm langen Larven gefunden, die in Sublimat-Eisessig fixiert und in toto mit Hämalaun und Eosin vorgefärbt wurden. Nach seiner Beschreibung fehlen diese Gebilde nur an den oberflächlichsten Zellen der zwei- oder dreischichtigen Epidermis. Sie bestehen „aus einer Reihe von scharf gezeichneten Fäden, die mit Eosin zwar nicht besonders intensiv, aber deutlich genug sich färben. Sie haben eine relativ beträchtliche Dicke und eine ganz homogene Beschaffenheit. Von Granulis ist an denselben auch mit Immersionssystemen nichts zu entdecken. Die Konturen der Fäden sind glatt. Bei der Dicke und der vielmehr losen Anordnung derselben können diese Fäden mit dem, was man sonst unter der fadenförmigen Struktur des Protoplasmas (im Sinne Flemmings) versteht, nicht verwechselt werden.“

Je nachdem die Zellformen der Basalschicht verschieden sind, weicht auch die Anordnung der Gebilde voneinander ab. In den keulenförmigen Zellen mit dem nach oben zugekehrten Kopf findet er ausser den geschlängelt oder gewunden nach der Längsrichtung hinziehenden, oft büschelförmig oder parallel nebeneinander angeordneten Fäden noch andere, eine quere Richtung annehmende und mit den vorigen also sich nahezu rechtwinklig kreuzende Fäden, die bald in der unmittelbaren Nähe des Kernes, bald in einiger Entfernung von demselben gelegen sind. In den anderen, pyramidenförmigen Zellen, die mit der Basis auf der Cutis ruhen, verlaufen die Fäden „hauptsächlich in der Längsrichtung von dem unteren Zellende nach dem oberen hin

und häufig leicht bogenförmig konvergierend. Die Windungen und Schlingen an den Fäden sind in diesen Zellen weit weniger entwickelt als in den zuerst beschriebenen Zellen. Die Fäden überschreiten in ihrem Verlaufe die Höhe des Kernes und können bis zu dem peripheren Zellende verfolgt werden. In denselben, aber breiteren Zellen wird nicht selten beobachtet, dass die Fäden in der peripheren Zellfläche bogenförmig gewunden in querer Richtung verlaufen.“ In den Zellen der dritten Art, die zwischen den Basalzellen und den oberflächlichen Zellen eingeschoben sind, haben die Fäden „hauptsächlich eine wellenförmig konzentrische Anordnung um den Kern herum“.

Über die Bedeutung und weiteren Schicksale der Gebilde spricht er nichts aus. Es ist ihm unwahrscheinlich, dass die fraglichen Gebilde mit den Nervenenden oder mit den Fadenstrukturen in den Epidermiszellen von Petromyzonten, ferner mit den Mitochondrien in eine Reihe zu stellen seien.

Schliesslich sei hier bemerkt, dass Eberth und Müller (4) diese Gebilde mit dem im Pankreas des Salamanders zwischen dem Kern und der Basalmembran vorkommenden sogenannten Nebenkern vergleichen, wie auch Nussbaum (19) dies getan hat.

Aus der oben angeführten literarischen Übersicht geht hervor, dass in bezug auf die Deutung der zuerst von Eberth gefundenen, dann von mehreren Seiten vielfach erwähnten sogenannten Eberth'schen intrazellulären Gebilde Meinungsverschiedenheiten vorliegen.

Die Autoren, wie Eberth, Mitrophanow, Kölliker, Maurer und Loewenthal, lassen ihre Bedeutung unentschieden, während Leydig die Fäden zur Sekretion in Beziehung zu bringen sucht. Die anderen Autoren, wie Pfitzner, Canini, Gaule, Frenkel und Macallum, halten die Gebilde für Nervenendigungen; es wurde diese Ansicht abgeleitet von der bekannten Theorie Hensens über die Entwicklung der peripheren Nerven, die darin besteht, dass jede periphere Nervenfasern die Verbindung zweier Zellen des Hornblattes darstellt, wovon die eine an der Peripherie, die andere im Zentralnervensystem gelegen ist. Die oben genannten Autoren nahmen diese Theorie Hensens auf und wurden demzufolge gezwungen, in den Epidermiszellen die Nervenendigungen herauszufinden. Sie haben dann ihre Aufmerksamkeit auf die Eberth'schen intrazellulären Gebilde gerichtet und glauben, dass sie intrazelluläre Nervenendigungen seien.

Eine ganz andere Stellung nehmen die Vermutungen Cohns, Schubergs und Studnička ein; sie glauben, dass die Gebilde eine Art Stützelement für das weiche Protoplasma darstellen oder das in den Amphibienlarven relativ dünne Corium in irgend einer Weise stützen; ja Studnička nimmt sogar an, dass die

Eberth'schen intrazellulären Gebilde Tonofibrillen (Protoplasmafasern) darstellen, die „in ihrem Vorkommen nur auf einzelne Zellen“ beschränkt sind.

III. Untersuchungsmaterial und -technik.

Das Material, das mir zur Verfügung stand, waren hauptsächlich die Larven von *Rhacophorus*. Die Länge der jüngsten Larven beträgt 9 mm; in den ältesten, die ich untersuchte, waren die vorderen Extremitäten noch in dem Kiemensack verborgen, doch dem Durchbruch sehr nahe. Ausserdem wurden die Larven von *Rana esculenta* nebenbei benützt, besonders in ihrem jüngsten Entwicklungsstadium. Ich muss gestehen, dass ich an den *Rhacophorus*larven bessere Resultate erzielt habe als an den *Ranalarven*. Auch habe ich in diesem Stadium hauptsächlich die Haut der Bauchseite berücksichtigt, in der die oft störend wirkenden Chromatophoren ganz fehlen oder nur vereinzelt vorhanden sind.

Als Fixierungsmittel habe ich in erster Linie das von Meves modifizierte Flemmingsche starke Gemisch gebraucht, das besteht aus:

$\frac{1}{2}$ proz. Chromsäure mit Zusatz von 1 ⁰ / ₀ Kochsalz	15 ccm
2proz. Osmiumsäure	3—4 ccm
Eisessig	3—4 Tropfen

Auch wurden die Sublimat-Eisessig- und Formalinfixierung angewandt.

Die mit Mevesschem Gemisch und Sublimat fixierten Schnitte färbte ich vor allem mit Eisenhämatoxylin, mit oder ohne Nachfärbung durch Plasmafarbstoffe, wie Eosin, Säurefuchsin etc. Die Mitochondrien bezw. Chondriokonten und mitochondrialen Stränge (sogenannten Eberth'schen intrazellulären Gebilde) treten dabei deutlich hervor; doch stehen die mit Sublimat-Eisessig fixierten Schnitte in den Einzelheiten den mit dem Mevesschen Gemisch vorbehandelten bedeutend nach; ebenso habe ich mit der Benda'schen Methode für Mitochondrien schlechtere Resultate erhalten.

Einen anderen Teil der Schnitte habe ich mit dem gewöhnlichen Alaunhämatoxylin und Eosin, und besonders nach der Kromayerschen Methode gefärbt, welche letztere sehr schöne Resultate liefert, weil es gewisse, durch die Mevessche Methode oder andere Plasmafärbungen nicht tingierte Gebilde deutlich hervortreten liess.

IV. Eigene Beobachtungen.

1. Mitochondrien bzw. Chondriokonten in den embryonalen und larvalen Epidermiszellen vor dem Erscheinen der sogenannten Eberthschen intrazellulären Gebilde.

Die Epidermis besteht aus zwei Zellenlagen, die am Kopf und Rücken (Fig. 1) hoch, an der Bauchseite (Fig. 2) und am Schwanz niedrig sind. Die Basalmembran (c), auf der die basalen Zellen ruhen, ist dünn und strukturlos; sie scheint am Schwanz noch zu fehlen, wenigstens ist sie nie deutlich zu sehen. Die Zellen der basalen Reihe weisen entweder flache oder hohe fünfeckige Formen auf und sitzen mit deren breiter Basis der Basalmembran auf. Der Kern ist gross, meist rundlich, blasig aufgetrieben; er nimmt in der Mitte der Zellen relativ grössere Dimensionen an. Er hat ein oder zwei rundliche, grössere Kernkörperchen und viele zerstreut liegende Körnchen, die nichts anderes als die Knotenpunkte der sehr dünnen Kerngerüste sind. Der Kernsaft nimmt den Farbstoff nur wenig auf. Die Dotterkügelchen, die in diesem Stadium noch reichlich vorhanden sind, stellen bald grössere, bald kleinere Kugeln dar, die an einigen Stellen durch Haufen von kleinsten Kügelchen repräsentiert sind.

Die Zellen der oberflächlichen Lage haben meist abgeplattete Form und füllen die Täler, die zwischen den oberen Enden der basalen Zellen gebildet werden, aus, so dass zwischen beiden Schichten eine zickzackförmige Linie entsteht. Die Beschaffenheit der abgeplatteten Kerne und der Kernkörperchen ist wie die der basalen Zellen. Die Dotterkügelchen sind meist an den beiden Enden des Kernes gelegen.

Die Zellen der beiden Schichten sind durch die Interzellularbrücken, welche die Interzellularräume überbrücken, miteinander verbunden, und die letzteren sind ihrerseits durch die Kittsubstanz, die zwischen den oberen Teilen der oberflächlichen Zellen eingelagert und durch Eisenhämatoxylin schwarz färbbar ist, von der Aussenwelt ganz geschieden.

Was die Mitochondrien bzw. die Chondriokonten der basalen Zellen betrifft, so erscheinen sie als vielfach geknickte Fäden, die ihren Hauptzügen nach von der Basalmembran gegen die Oberfläche gerichtet sind (Fig. 1 und 4). Sie sind entweder korkzieherförmig oder zickzackartig oder bogenförmig geknickt;

unter ihnen kommen auch zuweilen die ziemlich geraden vor. Wenn sie korkzieherförmig verlaufen, so erscheinen sie beim Einstellen in irgend einer Ebene als Körnchenreihen. Bewegt man den Fokus mit Hilfe der Mikrometerschraube auf- und abwärts, so überzeugt man sich bald, dass die Körnchenreihen in Wirklichkeit geknickte Fäden sind (Fig. 5 und 6). In einzelnen Fällen, wie dies aus der Fig. 3 zu ersehen ist, erscheinen aber die Fäden doch wirklich als Reihen von Körnchen. Solche Körnchenreihen, die durch Vereinigung der Körnchen mit den dünneren oder dickeren blass gefärbten Zwischengliedern entstanden sind, kommen bisweilen selbständig vor, wie es in einer der Basalzellen in der Fig. 3 gezeigt ist. In anderen Fällen sind die Körnchenreihen mit den Chondriokonten verbunden, so dass die Enden der letzteren allmählich in die ersteren übergehen (Fig. 3 und 11). Diese letztere Erscheinung ist in dem oberen Teil der oberflächlichen Zellen besonders ausgeprägt (Fig. 3).

Die geknickten Fäden umfassen den Kern, der verhältnismässig gross ist, korbartig. Die dünne Rindenschicht der Zellen, die in die Interzellularbrücken direkt übergeht, und auch die letzteren selbst sind ganz frei von Chondriokonten. Geht der Schnitt durch die Mitte des Kernes, so sieht man bisweilen Fäden, die über oder unter dem Kern horizontal verlaufen und nachher in der vertikalen Richtung sich umbiegen (Fig. 1 und 4). Geht dagegen der Schnitt durch die Oberfläche der Zelle, in der der Zellkern nicht sichtbar ist, so kann man den ganzen Verlauf der Fäden gut übersehen. In solchen Zellen (Fig. 1, 5 und 6) sieht man leicht, dass die Fäden von der Basalmembran gegen die Oberfläche unter mehrfacher Knickung sich hinziehen; dabei bemerkt man sehr deutlich, dass die Fäden nirgends miteinander sich verbinden oder sich teilen, sondern stets individualisiert verlaufen; was Anastomosenbildung zu sein scheint, beruht in Wirklichkeit nur auf einer Übereinanderkreuzung der Fäden. Wenn auch die Fäden vielfache Knickungen erfahren, so ist ihre Hauptrichtung, wie oben angedeutet wurde, nach oben gerichtet (Fig. 4—6). Die nach oben aufsteigenden Fäden biegen sich oft in der Höhe des oberen Endes des Kernes nach innen um, so dass sie über den Kern horizontal verlaufen, wie es Fig. 4 ganz klar zeigt.

In den oberflächlichen Zellen, soweit sie zu den kubischen gehören, zeigen die Fäden dieselbe Anordnung wie in den basalen:

doch lassen sich hier Besonderheiten erkennen, derart, dass die absteigenden Fäden oft in die aufsteigenden übergehen, wodurch unter dem Kern Schlingen gebildet werden (Fig. 8), und dass die Chondriokonten zwischen dem Kern und der freien Oberfläche einen dichten unentwirrbaren Knäuel bilden (Fig. 1, 3, 7 und 8). Im allgemeinen haben die Chondriokonten der oberflächlichen Zellen einen unregelmässigeren Verlauf und sind ein wenig dicker als die der basalen.

In den platten basalen Zellen (Fig. 2) sind die Chondriokonten als unregelmässige Fäden in den beiden Seiten des Kernes gelegen: von dort aus können einige über und unter dem Kern horizontal verlaufende Fäden ausgehen. Dies gilt auch von den oberflächlichen platten Zellen (Fig. 2), mit dem Unterschied, dass hier in der oberflächlichen Hälfte der Zellen stets mehr Fäden angesammelt sind als anderswo.

Die Länge der Chondriokonten ist in unserem Fall meist bedeutend, so dass oft die Fäden, die von einem Ende der Zellbasis ihren Anfang genommen haben, neben dem Kern vorbei aufsteigend, über den Kern eine Strecke weit horizontal verlaufen können, wie die Fig. 4 es zeigt. Ausser solchen kontinuierlichen langen Fäden sieht man auch relativ kürzere; unter diesen letzteren sind wahrscheinlich auch durchgeschnittene Stückchen der langen Fäden enthalten. Demzufolge müssen solche kürzeren Fäden häufig vorkommen in den Fällen, wo der Schnitt durch die Mitte des Zellkernes gegangen ist. Tatsächlich ist dies Verhalten in unserer Fig. 1 deutlich zu beobachten. Unter den basalen Zellen zeigen einige, die tangential angeschnitten sind, recht lange Fäden, während andere, die durch die Mitte des Zellkernes geschnitten sind, viel kürzere, oft punktförmig erscheinende Mitochondrien in sich einschliessen. Übrigens fiel es mir oft wegen des fast unentwirrbaren Verlaufes der Fäden sehr schwer, die freien Enden der längeren, ja sogar kürzeren Fäden deutlich zu bemerken. Zuweilen scheint das Ende eines Fadens in das eines anderen überzugehen. Selbst jene punktförmigen Mitochondrien gehen oft, wenn man die Mikrometerschraube bewegt, in die anderen Fäden über, oder verlieren sich aus der Schnittebene, um wahrscheinlich mit den Fäden der nächsten Schnitte sich zu verbinden.

Die selbständigen Körnchen kommen in unseren Präparaten nicht häufig vor, wie auch Meves (17) in den Zellen des Ektoderms des Hühnerembryos dies erwähnt hat.

Bei der Mitose lassen die Chondriokonten ihrer Dicke und Länge nach keine bemerkenswerte Veränderung erkennen. Von dem Knäuelstadium bis zum Beginn des Stadiums der Tochtersterne umgeben sie die Mitosenfigur korbartig und behalten wie vorher ihren stark geschlängelten Verlauf bei (Fig. 9—12). Fig. 9b wurde in der Ebene des Knäuels gezeichnet; hier sieht man kurz geschnittene Fäden um den Knäuel. Wenn man nun den Fokus nach oben verschiebt, so gehen die im ersten Fall kurz erschienenen Fäden allmählich zu längeren, mehrfach geknickten Fäden über, die über dem Knäuel gelegen sind (Fig. 9a). In den oberflächlichen Zellen bleibt auch die obere Anhäufung von Chondriokonten noch bestehen (Fig. 12), wie es in dem Ruhestadium der Fall war. Zwischen den Chromatinschleifen sind keine Chondriokonten zu sehen. Wenn die Tochtersterne mehr und mehr voneinander sich entfernen, so dringen die Chondriokonten erst jetzt zwischen die beiden Kerne ein (Fig. 13 und 14).

Zur Zeit, wo der Zelleib sich abzuschnüren beginnt, werden oft einige Chondriokonten in diesem verschmälerten Teil so angeordnet, dass sie nach der Richtung der Zugwirkung von einem Kern nach dem anderen durch die Abschnürungsstelle sich hinziehen (Fig. 15—17); doch kommen auch andere Fäden vor, die diese Richtung nicht annehmen, sondern vielmehr mit ihr einen gewissen Winkel bilden (Fig. 15 und 16). Nach der Vollendung der Zellteilung sieht man nicht mehr die Chondriokonten, welche die beiden Tochterzellen miteinander verbinden (Fig. 18 und 19); ob sie vielleicht in das Zellinnere sich zurückgezogen oder nur an dieser Stelle ihre Färbbarkeit verloren haben, muss ich unbeantwortet lassen.

Aus der Literatur über die Mitochondrien bzw. Chondriokonten der Epidermiszellen der Amphibienlarven gehe ich noch auf die Arbeit von Meves (16) und Samssonow (23) ein; beide beziehen sich auf die Urodelenlarven.

Meves (16) fand in den Epithelzellen der Kiemenblätter und der Schwanzflossen von Salamanderlarven sehr feine, kurze, wellig verlaufende Fädchen, die in der Nachbarschaft des Kernes, besonders derjenigen Seite desselben, die der Epitheloberfläche zugekehrt ist, stark angehäuft sind. Er vergleicht diese mitochondrialen Fädchen mit den von Flemming in frischen Epithelzellen beobachteten Fäden und hält die Bütschliche Kritik:

„Gekräusel von welligen Fäserchen ohne deutliche netzige Verbindungen“, für ganz zutreffend.

An demselben Objekt wie Flemming und Meves hat Samssonow (23) auch in den Epithelzellen „teils Körnchen, teils kürzere oder längere wellige Fäden“ gesehen.

An den Anurenlarven, wie aus meinen oben angeführten Beobachtungen sich ergibt, erscheinen die Mitochondrien nicht als kurze, sondern im Gegenteil zu den von Meves beobachteten als recht lange Fäden. Doch stimmt seine Angabe mit der meinigen darin überein, dass die wellig verlaufenden Fäden meist in der Nachbarschaft des Kernes gelegen sind, und dass, dies ist besonders wichtig, die Fäden trotz ihrer Knäuelbildung niemals netzige Verbindung eingehen, wie ich oben ausführlich beschrieben habe. Auch hat Meves richtig bemerkt, dass die Fäden besonders in der oberflächlichen Seite des Kernes angehäuft liegen; dies entspricht in unserem Fall jenem über dem Kern gelegenen Fadenknäuel, das meistens durch Umbiegung der neben dem Kern aufsteigenden gebildet ist, wie dies besonders in den oberflächlichen Zellen deutlich ausgeprägt ist.

Auch kommen unter den Chondriokonten vereinzelt die Körnchenreihen, d. h. die Mitochondrien vor. Ob die Chondriokonten, die in unserem Fall recht lang sind, aus der Verschmelzung der Körner hervorgegangen sind, kann ich nicht mit Bestimmtheit entscheiden. Allerdings sieht man, dass die jüngeren Zellen, wie die an den Flossensäumen, mehr mit solchen Körnchenreihen besetzt sind als die älteren; in gewissem Alter der Zellen erscheinen wieder die Körnchenreihen, die durch das Zergliedern der Chondriokonten gebildet zu werden scheinen, in ausgedehntem Maße und treten zu gewissen zellulären Bildungen in Beziehung, wie ich nächstmal darüber zu berichten Gelegenheit haben werde. Aus diesem Umstand kann man schliessen, dass die Mitochondrien bzw. Chondriokonten keine funktionelle, unveränderliche Zellstruktur darstellen, sondern während der Lebensdauer der Zellen vielfach sich umgestalten können, je nach den Bedingungen, denen die Zellen ausgesetzt sind.

Die embryonalen und larvalen Epidermiszellen enthalten bis zum gewissen Alter der Larven als einziges Morphoplasma derselben nur Mitochondrien bzw. Chondriokonten und nichts mehr. Dies kann man dadurch beweisen, dass, wenn die Chondrio-

konten zu den Bündeln verklebt werden, wie ich weiter unten genauer schildern werde, in dem zwischen solchen Bündeln gelegenen Raum keine Struktur sich mehr erkennen lässt, so dass es homogen erscheint.

Zuletzt sei hier bemerkt, dass die Chondriokonten bei der Mitose keine bestimmte Anordnung erfahren, wie es Meves (17) auch in den Zellen des Hühnerembryos im Gegensatz zu den Spermatozyten erster Ordnung wirbelloser Tiere beschrieben hat.

2. Die Entstehung der mitochondrialen Stränge (= der sogenannten Eberthschen intrazellulären Gebilde der Autoren).

Im folgenden beschränke ich mich auf die Schilderung der basalen Zellen, während ich von den oberflächlichen Zellen einstweilen absehe.

A. Erstes Stadium.

In diesem Stadium wird die Anordnung der Chondriokonten in den basalen Zellen, die im vorigen Stadium sehr verwickelt und oft unentwirrbar erschienen war, immer deutlicher in der Weise, dass sie von der Cutis gegen die Oberfläche der Zelle sich in einem fast vertikal gestellten, leicht welligen, oft fast parallelen Verlauf hinauf ziehen (Fig. 21–24).

Was die oberen Enden der so gestellten Chondriokonten betrifft, so passt hier auch die Angabe, die ich im vorigen Kapitel über sie machte: sie enden hier entweder frei oder gehen in einen Bogen, der über dem Kern gelegen ist, direkt über. Ihre unteren Enden scheinen die Cutis zu erreichen, wie aus den Fig. 21–23 und 25 ersichtlich ist. In günstigen Fällen bemerkt man, dass mit ihren unteren Enden die senkrecht gestellten Chondriokonten in solche, die an der basalen Fläche der Zellen horizontal verlaufen, ununterbrochen übergehen (Fig. 22).

Die Zellen, welche die eben erwähnte Anordnung der Fäden zeigen, haben kubische oder zylindrische Form, färben sich dunkler und enthalten oft verschlungene Chondriokonten, die zwischen den mehr gestreckten Fäden sich befinden.

Die Streckung der Fäden tritt in allen Zellen der basalen Reihe nicht gleichmässig auf, sondern in den verschiedenen Zellen ist das Auftreten solcher Anordnung der Chondriokonten zeitlich sehr verschieden, so dass die letzteren, während sie in den einen

Zellen diese Umordnung erfahren, in den anderen noch auf ihrer ursprünglichen Form mit dem sehr verwickelten Verlauf beharren. Diese zeitliche Verschiedenheit in der Entwicklung der Zellen der basalen Reihe hat eine sehr wichtige Bedeutung für die Aufgabe der Zellen bei der Schichtenbildung der Epidermis und für die Frage über die Epidermis-Cutisgrenze, worauf ich später eingehen werde.

B. Zweites Stadium.

Der Zustand der oben geschilderten Streckung der Chondriokonten dauert vielleicht nur kurze Zeit; schnell darauf folgt die „Verklebung“ derselben. Doch setzt in den meisten Fällen der Streckungs- und Verklebungsprozess der Chondriokonten fast gleichzeitig ein, so dass der erstere Prozess von dem letzteren nur schwer auseinander zu halten ist.

Durch die Verklebung der einzelnen Chondriokonten entstehen dort dünne, wellig verlaufende, nach oben immer schmaler werdende primäre „mitochondriale Stränge“, wie ich sie nennen möchte (Fig. 23–26). In Anbetracht der Kleinheit der Chondriokonten ist es schwer, zu sehen, wie die Verklebung sich vollzieht, und wo dieser Prozess zuerst einsetzt. Allerdings bemerkt man, dass jeder primäre mitochondriale Strang in seinem unteren Ende, wo er die Cutis berührt, mit einigen Fibrillen fächerförmig auseinanderweicht, so dass dadurch der mitochondriale Strang in seine Bestandteile, d. h. in die Chondriokonten zerlegt wird (Fig. 24–26). Diese fächerförmige Ausbreitung weist darauf hin, dass die unteren Enden der Chondriokonten relativ fest der Cutis anhaften bleiben und dadurch hier dem Verklebungsprozess einen gewissen Widerstand leisten.

Die Stränge steigen in welligem, beinahe parallelem Verlauf gegen das oberflächliche Ende der Zelle, wo sie sich allmählich verschmälern. Da die sich verbindenden Chondriokonten in ihrer Länge nicht gleich sind, sondern auf ihrem Wege nach dem oberflächlichen Teil der Zelle in verschiedener Entfernung von der Cutis enden, so müssen durch ihre Verklebung die nach oben sich allmählich verschmälern Stränge entstehen.

Die meisten Fäden biegen mit ihren oberen Enden nach innen um, um frei zu endigen. Den bogenförmigen Strang, der die oberen Enden der vertikal gestellten Stränge untereinander verbindet, sieht man in diesem Stadium nur selten (Fig. 25).

Doch bemerkt man oft, dass der Strang einen Ast abgibt, der schräg nach oben ziehend einem anderen Strang sich anschliesst, um daselbst weiter zu ziehen (Fig. 23).

In der Folgezeit (Fig. 27—35) werden die primär verklebten mitochondrialen Stränge immer dicker. Dieses Dickerwerden ist dadurch herbeigeführt worden, dass sie sich mit ihren Genossen wieder verkleben und dass sie selbst immer mehr anwachsen. Diese Verklebung scheint zunächst in den oberen Teilen der primär entstandenen Stränge aufzutreten (Fig. 26) und gegen die Cutis vorzuschreiten, wo die Stränge in einer gewissen Entfernung von der Cutis wieder in einzelne Chondriokonten auseinander weichen, um den Kegel zu bilden, der jetzt sowohl in der Breite wie in der Höhe sich mehr als vorher ausdehnt (Fig. 31—34). Je dicker der Strang wird, desto grösser wird der Konus, desto geringer wird auch die Zahl der Stränge in einer Zelle.

Die Stränge haben leicht welligen Verlauf und sind ihrer Hauptrichtung nach stets vertikal gestellt; der letztere Umstand ist wichtig für den Unterschied zum nächstfolgenden Stadium, wo die Stränge meist schief, ja sogar horizontal verlaufen.

Das Verhalten der oberen Enden der Stränge ist jetzt deutlich zu sehen. In dem einen Fall biegen sich die oberen Enden nach innen um und scheinen frei zu endigen (Fig. 32 und 33); in dem anderen Fall, wie besonders in den tangential ausgeschnittenen Zellen gut zu sehen ist, geht der Strang, einen Bogen umschreibend, in das obere Ende des anderen über (Fig. 30); in noch einem anderen Fall teilt sich das obere Ende in zwei gleiche oder ungleiche Äste, von denen entweder beide den Bogen bildend in die oberen Enden der anderen Stränge übergehen (Fig. 29), oder nur der eine Ast denselben Weg nimmt, während der andere schräg nach oben ziehend dem anderen Strang sich spitzwinklig zugesellt, um mit dem letzteren weiter zu ziehen (Fig. 28). Sicherlich sind diese bogenförmigen Stränge von jenen früher besprochenen bogenförmig über den Kern verlaufenden Chondriokonten abzuleiten, durch deren Verklebung sie entstehen. Auf diese bogenförmigen Stränge lege ich deswegen ein grosses Gewicht, weil sie bei den weiterfolgenden Stadien noch bestehen bleiben und auf weiteren Entwicklungsstufen der Stränge nie zu fehlen scheinen.

Der Modus dieser sekundären Verklebung ist sehr mannigfaltig, so dass die dadurch entstandenen sekundären Stränge

verschiedene Formen aufweisen: in dem einen Fall haben die gebildeten Stränge ungefähr gleichmässige Dicke (Fig. 32); in dem anderen besitzen einige Stränge bedeutendere Dicke, während die anderen noch auf dem Zustand der primären Stränge beharren (Fig. 30). In den beiden Fällen können die Stränge durch den Bogen oder den schräg verlaufenden Verbindungsstrang miteinander verbunden sein oder nicht.

Wenn Dotterkügelchen in diesem Stadium noch übrig geblieben sind, so können sie als ein Hindernis bei dem Verklebungsprozess des Stranges wirken, so dass der Strang mit seinen Fibrillen ein Dotterkügelchen zwischen sich umfasst, wie es die Fig. 35 zeigt.

Die Zellen, welche die oben erwähnten Besonderheiten aufweisen, haben meist beinahe kubische Form: ihr Protoplasma färbt sich im allgemeinen dunkel wie das der Zellen des ersten Stadiums; doch in den Zellen, die in ihrer Entwicklung dem nächst zu schildernden Stadium sehr nahe stehen, ist der basale Teil derselben ein wenig heller als der obere Teil. Er enthält noch Reste von primären Strängen, die sich noch nicht zu den sekundären vereinigt haben, und eine gewisse Menge von Körnchen oder feinfaseriger Substanz, die besonders in der oberflächlichen Hälfte der Zelle angehäuft sind und die dunklere Färbung dieser Stelle bedingen. In dem anderen Fall findet man anstatt dieser feinfaserigen Substanz oft gut erkennbare geknickte Chondriokonten (Fig. 35). Der Kern, der, wie in dem vorigen Stadium, ziemlich gross und rundlich ist, hat seine Lage meist in der Mitte der Zelle und ist von den mitochondrialen Strängen umschlossen.

Wie oben geschildert wurde, nehmen die Mitochondrien bzw. Chondriokonten der basalen Epidermiszellen der Anurenlarven in gewissem Alter derselben (schon bei 1,4 cm langen Larven) einen mehr gestreckten Verlauf, so dass sie sich gegen die Hautoberfläche vertikal orientieren. In der Folgezeit verkleben diese orientierten Chondriokonten mehr und mehr, wie wir es schon präzisiert haben. Ich habe das Wort „Verklebung“ absichtlich gewählt und oft gebraucht, und jetzt auch muss ich ausdrücklich betonen, dass es sich hier keinesfalls um direkte Verbindung oder Verschmelzung, sondern um dichte Nebeneinanderreihung der Chondriokonten handelt. Zum Beweis für die letztere Annahme führe ich folgende Punkte an: erstens sieht man schon in dem ersten, noch deut-

licher in dem zweiten Stadium der mitochondrialen Strangbildung, wie das untere Ende der Stränge in seine Bestandteile, d. h. in die einzelnen Chondriokonten zerlegt wird; dabei bemerkt man, dass der Konus der primären Stränge, der verklebten Zahl der Chondriokonten gemäss, nur aus einigen Fäden besteht, während der sekundäre Strang, der ziemlich dick ist, einen grösseren Konus aufweist, so dass auseinander weichende Fäden in grösserer Zahl vorhanden sind. Auch ist jener schräg verlaufende Verbindungsstrang keinesfalls eine Verbindung im strengen Sinne des Wortes, sondern nur eine Verklebung, so dass die mit einem Strang verklebt verlaufenden Fäden von ihm getrennt, selbständig geworden sind und dann einem anderen Strang sich anschliessen, um mit ihm sich verklebend weiter zu ziehen. Dann kann man in dem ziemlich dicken Strang direkt beobachten, dass er feine Strichelungen zeigt, die nichts anderes als die verklebten Chondriokonten selbst sein können. Endlich ist es wichtig zu sehen, dass der Strang sowie die Spitze des Konus in der Endphase des zweiten Stadiums wegen der später zu schildernden Ursache oft nach der Seite sich neigen kann, so dass das gleichschenkelige Dreieck des früheren Konus sich jetzt mehr dem rechtwinkligen nähert, wie die Textfiguren 1 und 2 es zeigen. Da bei dieser Formänderung des



Fig. 1



Fig. 2.

Konus die der Senkrechten näher liegenden Chondriokonten immer kürzer sind als die an die Hypothenuse grenzenden, so muss man annehmen, dass die Chondriokonten, die den Strang zusammensetzen, bei diesem Prozess sich nebeneinander verschoben haben. Diese Verschiebung der Chondriokonten, scheint mir, muss ein wichtiger Beweis dafür sein, dass die Chondriokonten bei der Strangbildung niemals miteinander verschmelzen, sondern nur verklebt sind.

Aus den oben angeführten Tatsachen geht hervor, dass die Stränge, wenn sie auch oft von einer homogenen Masse gebildet zu werden scheinen, wie von mehreren Autoren angenommen worden ist, in Wirklichkeit eine Metastruktur besitzen.

Über die Ursache, welche die Verklebung der Chondriokonten veranlasst, kann ich nichts Bestimmtes aussagen. Da die Stränge, wie ich weiter unten schildern werde, zu den verschiedenen Zellstrukturen oder den Ausscheidungsprodukten im weiteren Sinne umgewandelt werden können und nach ihrer färberischen Reaktion sich nicht anders verhalten als die Mitochondrien bzw. Chondriokonten selbst, so kann man mit Recht annehmen, dass die Stränge nur verklebte Mitochondrien, bzw. Chondriokonten sind.

Warum haben sich nun die Chondriokonten zu dem Bündel verklebt? Warum können sie nicht einzeln getrennt geblieben sein?

Um auf diese Frage eine Antwort zu geben, muss man zuerst die weiteren Schicksale der verklebten Stränge betrachten. In den Epidermiszellen der Anurenlarven, so viel ich aus meinen Beobachtungen schliessen kann, beteiligen sich die mitochondrialen Stränge einerseits an der Bildung des einen Teiles der Cutis und der Tonofibrillen, andererseits lösen sie sich auf gewissen Entwicklungsstufen der Tiere entweder auf oder werden zugunsten der bald erscheinenden Chondriokonten zerlegt. Diese verschiedenartige Umwandlung der mitochondrialen Stränge in der weiteren Entwicklung der Larven weist darauf hin, dass sie keine fertige, funktionelle, bleibende Zellstruktur, sondern vielmehr „das den Differenzierungsprozessen zugrunde liegende materielle Substrat darstellen, welches in den spezifischen Substanzen der verschiedenen Gewebe different wird“, wie Meves (17) sich hinsichtlich der Chondriokonten ausgedrückt hat.

Wie später geschildert werden wird, sieht man in den basalen Epidermiszellen anfangs noch keine fertigen Gebilde, die als Stützelemente bezeichnet werden können. Erst in einem gewissen Larvalstadium, wo die hinteren Extremitäten gut entwickelt sind, erscheint in der Peripherie der Epidermiszellen (an der Bauchhaut) eine dünne, mit Säurefuchsin sich rot färbende Membran, die nichts anderes als der erste Anfang des Exoplasmas sein kann. Dieses Exoplasma müsste, wie auch Studnicka (28) annimmt, ausschliesslich aus Tonofibrillen bestehen und daher für die Befestigung der Epidermiszellen eine wichtige Rolle spielen. Von

dem Stadium, wo die mitochondrialen Stränge erst zu entstehen beginnen, bis zum Stadium, wo die Exoplasmabildung einsetzt, dauert es nicht weniger als einen Monat. Während dieser recht langen Zeitdauer entbehren die Epidermiszellen der Stützelemente. Da die Larven schon früh im Wasser sich bewegen und dadurch ihre Epidermis gewissen Zug- und Druckverhältnissen ausgesetzt wird, so müssten die geknickten Chondriokonten der Spannung der Epidermiszellen gemäss orientiert werden. Die im Zellplasma orientierten Fäden verkleben leicht miteinander, so dass die mitochondrialen Stränge entstehen, die nichts anderes als die von mehreren Autoren oft beschriebenen, doch in ihrer Natur bis jetzt rätselhaft gebliebenen sogenannten Eberth'schen intrazellulären Gebilde sind und dem weit vorgeschrittenen Stadium unserer sekundären Stränge entsprechen.

Einmal gebildet, richtet sich die Anordnung der Stränge nach der Form und Lage der sie enthaltenden Zellen, so dass verschiedentliche Formen entstehen, die seit langer Zeit oft beschrieben wurden und die auch ich in meinen Tafeln abbilde.

Mit der Strangbildung werden die Chondriokonten, die in den basalen Zellen der larvalen Epidermis nur ein einziges Formgebilde darstellen und nichts anderes als die Filarmasse Flemmings sind, wie es Meves und Samssonow schon behauptet haben, und worin auch ich mich ihnen anschliessen möchte, allmählich verbraucht bis zum fast vollständigen Schwund, wie später geschildert werden wird. Die Zellen erscheinen dann heller, wasserklar, haben keine Struktur. In solchem weich aussehenden, resistenzlosen Zellplasma dürften wohl die mitochondrialen Stränge als Stützgerüst dienen: doch möchte ich behaupten, dass sie nicht gebildet wurden, um die relativ weichen Epidermiszellen dieser Tiere zu befestigen, sondern dass umgekehrt dass Weichwerden der Zellen als Folge der mitochondrialen Strangbildung betrachtet werden muss. Mit dem Erscheinen des Exoplasmas werden die mitochondrialen Stränge immer schmaler und verschwinden zuletzt. Dieser Umstand lässt sich dadurch erklären, dass einerseits ein Teil der mitochondrialen Stränge zur Exoplasmabildung verbraucht, und andererseits ein gewisser Teil derselben zu Chondriokonten zerlegt wird, weil hier, wo das Exoplasma für die Befestigung der Epidermiszellen gebildet ist, jene Stränge, die in gewissem Sinne als Stützgerüst gedient hatten, nicht mehr gebraucht werden.

Wenn ich meine Meinung kurz zusammenfasse, so stellen die mitochondrialen Stränge (d. h. die sogenannten Eberth'schen intrazellulären Gebilde der Autoren) verklebte Chondriokonten dar, die nach der Form und Lage der sie enthaltenden Zellen sehr verschiedentliche Anordnung zeigen. Über die Ursache solcher Strangbildung liegt die Vermutung nahe, dass die Epidermiszellen schon früh, ehe die Tonofibrillen gebildet worden sind, den Zug- und Druckverhältnissen ausgesetzt werden, welche die Orientierung der Chondriokonten zur Folge haben. Diese orientierten Chondriokonten verkleben mehr und mehr miteinander, so dass die mitochondrialen Stränge entstehen. Mit dieser Strangbildung wird das einzige Morphoplasma der Epidermiszellen im larvalen Stadium, d. h. die Chondriokonten selbst allmählich verbraucht; die Zellen werden homogen, weich, so dass sie die gebildeten Stränge als Stützgerüst für sich zu Hilfe ziehen müssen.

3. Beschreibung der mitochondrialen Stränge in den Epidermiszellen an den verschiedenalterigen Larven.

A. 1,4 cm lange Larven.

Ich sehe mich genötigt, zur Beschreibung dieses Stadiums zuerst die Hautstelle, die pigmentfrei ist (z. B. die Bauchhaut), zu wählen.

Die Epidermis besteht aus zwei Lagen von Zellen: der basalen und der oberflächlichen; von der Beschreibung der letzteren sehe ich hier ab. — Man kann drei Arten von basalen Zellen je nach ihrer Form und nach der verschiedenen Entwicklungsstufe der mitochondrialen Stränge, die in ihnen eingeschlossen sind, unterscheiden.

Die Zellen der ersten Art (Fig. 20 I, Fig. 24—26 und 58) weisen meist die Form eines Kegels auf, der mit der mehr oder weniger verbreiterten Basis auf der Cutis liegt. Sie enthalten meist vertikal verlaufende feine mitochondriale Stränge in dem primären Stadium der Verklebung. Diese verlaufen fast parallel zueinander und sind dicht unter der Oberfläche der Zellen gelegen, wie Fig. 20 I und 58 und besonders Fig. 59 b I, wo die Zellen quer geschnitten sind, es deutlich zeigen. Sie erreichen unten die Cutis, während sie oben über dem Kern allmählich verschwinden. Was diesen Zellen eigentümlich ist, ist jenes Gebilde, das auf der Cutis dicht anliegend, die basale Fläche der

Zellen umsäumt. Die Natur und das weitere Schicksal desselben werde ich im Kapitel über die Frage der Epidermis-Cutisgrenze genauer behandeln. Die Zellen dieser Art sind dunkler gefärbt, enthalten oft kurzstäbige oder längere fädige Mitochondrien. Der Kern ist meist gross, rundlich oder in der vertikalen Richtung länglich, beansprucht für sich eine grössere Dimension des Zelleibes.

Die Zellen der zweiten Art (Fig. 20 II und 27—35) haben kubische oder fünfeckige Form, ruhen mit der Basis auf der Cutis. Die mitochondrialen Stränge dieser Zellen stellen das zweite Stadium der Strangbildung dar, worüber schon oben genauer gesprochen wurde. In der basalen Fläche sieht man zuweilen jenes oben angedeutete Gebilde, das hier sehr dünn, oft fast nicht zu bemerken ist, und daraufliegende horizontal verlaufende mitochondriale Stränge, die häufig in die vertikal gestellten umbiegen. Die Zellen sind dunkler gefärbt, doch heller als die der ersten Art. Sie enthalten körnige Einschlüsse, die um den Kern sich anhäufen und nichts anderes als geknickte Chondriokonten sind. Der Kern ist gross und rundlich, füllt den grösseren Teil des Zelleibes aus, färbt sich heller als das Protoplasma.

Die Zellen der dritten Art (Fig. 20 III, III' und 36—57) sind dadurch ausgezeichnet, dass sie deutliche mitochondriale Stränge enthalten. Diese Stränge unterscheiden sich auf den ersten Blick von den schon beschriebenen dadurch, dass die Bündel meist dicker sind als die sekundären und dass die Richtung derselben, wenn auch nicht in allen Fällen, meist eine schräge ist, während die sekundären Stränge vertikal verlaufen, wie schon oben gezeigt wurde: also haben die früheren sekundären Stränge jetzt eine gewisse Umordnung erfahren.

In vertikalen Schnitten der Haut finden sich stranghaltige Zellen in zwei verschiedenen Formen. In einem Fall treten die Zellen in grossen, mehr in querer Richtung sich ausdehnenden rechteckigen Formen auf (Fig. 20 III und 36—55), während sie in dem anderen Fall von kleiner Kegelform sind mit nach oben gekehrter Basis und nach unten, gegen die Cutis gerichteter Spitze (Fig. 20 III' und 56 und 57). Diese beiden Bilder stellen nicht zwei Arten der Zellen dar, sondern sind dieselben Zellen, die je nach der Schnittrichtung sich so verschiedentlich verhalten.

Dies kann man leicht dadurch beweisen, dass, wenn man nach dem Einstellen auf irgend eine kegelförmige Zelle den Fokus mit Hilfe der Mikrometerschraube auf- und abwärts bewegt, oft die Kegelform in die rechteckige übergeht.

Dem Gesagten zufolge weisen die Zellen, die mit deutlichen Strängen durchsetzt sind, die Form eines grösseren, länglichen, mit seiner Kante nach unten gegen die Cutis zugekehrten Keiles auf. Wenn der Schnitt parallel zu der breiteren Fläche dieser keilförmigen Zellen geht, so erhält man rechteckige Form. Werden dagegen die Zellen senkrecht zu ihrer Längsachse geschnitten, so tritt die kegelförmige Zelle auf, die mit ihrer Spitze die Cutis berührt. Der in dem oberen Teil der Zelle verschobene Kern hat abgeplattete und längliche Form.

Die Zellen der dritten Art zeigen, wie oben angedeutet wurde, deutliche mitochondriale Stränge, in denen die Verklebung jetzt noch mehr vorgeschritten ist als vorher. Die Form und Anordnung der Stränge ist sehr mannigfaltig und es würde eine unnütze Arbeit sein, dies einzeln zu schildern. Daher sei es angezeigt, nur die Typen, unter denen diese mannigfaltigen Figuren gruppiert werden können, hier zu beschreiben.

I. Typus (Fig. 36—40). In diesem Typus sind die gesamten sekundären Stränge zu einem Bündel verklebt; demzufolge entsteht dort ein grosser Kegel, der mit der Basis auf der ganzen oder fast ganzen Basalfläche der Zellen sitzt, während seine Spitze seitlich von dem Kern abgelenkt ist; der Kegel ähnelt jetzt dem rechtwinkligen Dreieck (Fig. 36—38), so dass das unter dem Kern schräg verlaufende Bündel die Hypotenuse desselben bildet. Die Chondriokonten, die den Kegel zusammensetzen, sind entweder gleichmässig verteilt (Fig. 37), oder in mehrere kleine Bündel getrennt (Fig. 36 und 38—40). Die Spitze der Kegel setzt sich meist in einen dünnen Strang fort, der sich bald unseren Augen entzieht (Fig. 36) oder über den Kern eine Strecke weit verläuft, um dann zu verschwinden (Fig. 37). In einem anderen Fall kann man oft sehen, dass der über den Kern verlaufende dünne Strang an dem anderen Pol des Kernes ununterbrochen in einen vertikal verlaufenden, ebenfalls dünnen Strang übergeht, um wieder die Cutis zu erreichen (Fig. 38—40); dadurch wird jener Bogen gebildet, der schon bei der sekundären Strangbildung uns bekannt ist. Ausserdem sieht man oft von dem Strang dünne geknickte

Fäden ausgehen und in das in diesem Stadium um den Kern sich anhäufende Fadenknäuel übergehen, das nichts anderes als der Rest der geknickten Chondriokonten selbst ist (Fig. 39).

II. Typus (Fig. 41—43). Hier haben die sekundären Stränge sich zu zwei fast gleich grossen Kegeln vereinigt, deren Spitzen entweder zu beiden Seiten des Kernes (Fig. 41 und 42a) oder auf einer und derselben Seite desselben gelegen sind (Fig. 42b). Das obere Ende des Kegels ist meist einwärts umgebogen, endet über dem Kern frei (Fig. 42a) oder ist durch einen (Fig. 41) oder zwei (Fig. 43) Bogen mit dem Ende des anderen verbunden. Solche Verbindungsfäden verlaufen meist über den Kern, in einzelnen Fällen um den Kern.

III. Typus. In diesem sind mehrere (drei und mehr) gleich oder ungleich grosse Kegel vorhanden, deren Spitzen, wie in dem oben geschilderten, entweder frei enden oder durch einen dünnen Strang, der um den Kern einen Halbkreis bildet, miteinander verbunden sind (Fig. 44). Dieser Typus ist nicht häufig zu sehen.

IV. Typus. Bei den drei oben genannten Typen können die Stränge unschwer auf die sekundären Stränge zurückgeführt werden, von denen die ersteren abgeleitet wurden. Werden die sekundären mitochondrialen Stränge zu zwei gleich oder ungleich grossen Strängen mit oder ohne Erhaltung der bogenförmigen Stränge vereinigt, so entstehen der zweite Typus und ein Teil des ersten. Werden dagegen die sekundären Stränge nicht mehr vereinigt, sondern die sie enthaltenden Zellen in demselben Zustand der Verklebung sich weiter entwickeln, so entsteht der dritte Typus, bei dem die früheren bogenförmigen Stränge zu einem den Kern umkreisenden Faden sich umgewandelt haben.

Dem oben angeführten gegenüber ist der vierte Typus der am meisten entwickelte. Allerdings bezieht sich dieser Typus auf die oben geschilderten drei Typen, von denen er als abgeleitet zu betrachten ist. Es handelt sich hier vor allem um die Bildung des Bogens, der den Kern von unten umfaßt. Dieser Bogen steht zu jenem Bogen, der von den bogenförmigen Fäden der sekundären Stränge hervorgegangen und über dem Kern gelegen ist, in keiner Beziehung; doch der letztere kann durch das Zugeseilen der Stränge, die sonst den gleich zu schildernden Bogen bilden, verstärkt werden.

Den Anfang dieser Bogenbildung zeigt die Fig. 45. Auf dieser Figur sieht man, dass die einander gegenüber stehenden Seiten der Kegel durch einen dünnen Strang (B), der anfangs aus einigen Chondriokonten zu bestehen scheint, miteinander verbunden sind. Die beiden Enden dieses Verbindungsstranges gehen ununterbrochen in die Chondriokonten, die den Rand des Konus besäumen, über, um mit dem Hauptteil des Konus gegen die Spitze desselben zu ziehen. Dieser zuerst dünne Verbindungsstrang wächst mehr und mehr durch das Zugesellen weiterer Fäden zu einem starken Bündel heran (Fig. 46 und 47), während die früheren breiten Kegel immer mehr sich reduzieren, so dass sie oft durch sehr dünne Stränge repräsentiert werden (Fig. 48). Doch in recht vielen Fällen behalten die Kegel trotz der starken Bogenbildung mehr oder weniger ihre ursprüngliche Ausdehnung bei (Fig. 47). Ferner sieht man oft oben genannte Bogenbildung in den Zellen, welche die Stränge des dritten Typus in sich einschliessen, wie Fig. 49 und 50 B es zeigen. In den einzelnen Fällen, wo ein die ganze Zellbasis einnehmender Konus vorhanden ist, sieht man oft, dass von dem oberen Rand des Konus ein Strang entspringt, der nach oben verlaufend entweder frei endet (Fig. 51 B) oder mit dem von der anderen Seite des Kernes kommenden zugespitzten Ende des Konus über dem Kern zum Bogen sich vereinigt (Fig. 52 und 53 B). Das untere Ende des betreffenden Stranges, wo es mit dem Konus sich verbindet, biegt sich um, um den oberen Rand des Konus besäumend, gegen die Spitze desselben zu ziehen (Fig. 51—53).

In solchen Zellen, die quer zu ihrer Längsachse geschnitten sind, also kegelförmige Gestalt mit nach unten zugekehrter Spitze aufweisen (Fig. 20 III' und Fig. 56, 57), sieht man den Kegel nicht in seiner ganzen Ausdehnung, sondern nur seine Kante, so dass der Strang in der Form einer einfachen Spindel (Fig. 56) oder einer Gabel (Fig. 57) erscheint.

Die oben geschilderten vier Typen stellen die Vertreter der in den Epidermiszellen der dritten Art vorhandenen mitochondrialen Stränge dar, die, wenn sie auch so verwickelt sind, dass sie oft fast unlösbar erscheinen, auf einen von ihnen zurückgeführt werden können.

Worauf beruht nun diese Umordnung der mitochondrialen Stränge? Wie sind sie von den schon früher geschilderten sekun-

dären Strängen, die den senkrechten, miteinander fast parallelen Verlauf gezeigt haben, abgeleitet?

Um die Ursache dieser Umordnung zu erforschen, würde es nötig sein, die Formänderung der die sekundären Stränge enthaltenden Zellen in der weiteren Entwicklung der Larven zu berücksichtigen.

Die Formänderung der basalen Epidermiszellen besteht darin, dass die eine Zelle in ihrem basalen Teil allmählich verschmälert wird, während die andere, benachbarte Zelle, die der oben genannten ersten Art angehört, ihre Basis mehr und mehr verbreitert. Diese Verschmälerung der Basis vollzieht sich nicht nach allen Seiten des Raumes, sondern von den einander gegenüberliegenden Seiten, während sie in den anderen Richtungen nicht stattfindet. Als Folge solcher Verschmälerung entsteht eine an einen Keil erinnernde Zelle, die mit ihrer Kante der Cutis anhaftet, wie schon oben beschrieben wurde. Es sei hier bemerkt, dass die Kante nicht immer geradlinig oder bogenförmig, sondern häufig drei-, vier- oder fünfstrahlig ist, so dass eine solche keilförmige Zelle nicht nur durch zwei, sondern durch drei, vier oder fünf Zellen hindurch gedrängt wird. Die Zelle ist auch länglicher geworden als vorher, wo sie sekundäre Stränge gezeigt hat. Dieses Verhältnis kann man gut übersehen, wenn man Flächenschnitte anfertigt. An solchen Schnitten (Fig. 59 a) wird man beobachten, dass die längliche, hellerscheinende, mit deutlichen Strängen besetzte Zelle (III) zwischen den dunkler gefärbten Zellen (I), die dem ersten Typus angehören, eingelagert ist. Wenn man nun den Fokus mit Hilfe der Mikrometerschraube nach unten bewegt, so wird man sich bald davon überzeugen, dass die beim höheren Einstellen relativ breit gewesene Zelle der dritten Art dabei immer schmaler wird, während die benachbarten dunkleren Zellen ihre Basis verbreiterten (Fig. 59 b I), so dass zuletzt drei-, vier- oder fünfstrahlige Linien entstehen, an denen das untere Ende des Konus der Cutis anhaftet (Fig. 59 b III ts').

Als Folge der oben genannten Verschmälerung des basalen Teiles muss natürlich eine Verlagerung und Abplattung des Kernes herbeigeführt werden.

Auf die verschiedene Wachstumsenergie der basalen Epidermiszellen, als deren Teilerscheinung vielleicht das Breiterwerden der Basis der einen Zellen und die Verschmälerung der anderen

zu betrachten wäre, hier einzugehen, wird zu weit führen. Ich beschränke mich nur auf eine Hervorhebung des ursächlichen Moments, das wahrscheinlich mechanisch wirken muss.

Mit dem Vorschreiten der Strangbildung werden die Chondriokonten mehr und mehr zu Bündeln vereinigt. Dieser Prozess ist in dem basalen Teil der Zelle ausgesprochen, so dass zuletzt zwischen den Strängen kein Morphoplasma mehr vorhanden ist. Es erscheint jetzt hier homogen, entbehrt der Stützgerüste der Zelle, wenn es auch von den mitochondrialen Strängen durchsetzt ist. Da die letzteren wellig verlaufen und einen gewissen Spielraum haben, um gespannt zu werden, so würden sie selbst in diesem Fall gegen den Seitendruck keinen Widerstand leisten. Dieser Umstand muss sicher eine wichtige Ursache der Verschmälerung des basalen Teiles sein.

Mit dieser Verschmälerung des basalen Teiles der betreffenden Zellen setzt auch in ihrer inneren Struktur, in den Chondriokonten bzw. in den mitochondrialen Strängen eine gewisse Umordnung ein. Wie oben schon gezeigt wurde, umfassen die sekundären mitochondrialen Stränge, die vertikal verlaufen, in dem peripheren Teil der Zelle den Kern, wie Fig. 27—34 und Fig. 59 II, in welcher letzterer die Zelle der zweiten Art quer geschnitten ist, es deutlich zeigen. Wird nun diese Zelle von den einander gegenüberliegenden Seiten gedrückt, so müssen die mitochondrialen Stränge von dieser gedrückten Stelle nach den nicht gedrückten Seiten abgelenkt und dort miteinander verklebt werden. Da die Zahl der nach beiden Seiten abgelenkten Stränge verschieden sein kann, so entstehen die in Fig. 36—43 abgebildeten verschiedenen Möglichkeiten. Auch bleiben bei dieser Strangbildung ein, zuweilen zwei Bogen, die schon bei der sekundären Strangbildung vorhanden waren, über dem Kern erhalten (Fig. 38—43).

Jetzt muss man daran denken, dass mit der Verschmälerung des basalen Teiles die basale Fläche der Zelle immer kleiner wird. Durch diese Verkleinerung der basalen Fläche müssen folglich die unteren Enden der Stränge in einigen Stellen von der Cutis abgetrennt und frei werden. Diese abgehobenen Chondriokonten verkleben mit den noch in Verbindung mit der Cutis stehenden Strängen, so dass die letzteren immer dicker werden. Ausser diesem Modus der Verklebung gibt es noch andere. Wenn nun die Chondriokonten, die mediale Ränder der zwei einander gegen-

überstehenden Kegel besäumen, abgehoben werden, so tritt der oben genannte Strang auf, der die medialen Ränder miteinander verbindet (Fig. 45—50B). Dieser Verbindungsstrang ist anfangs sehr dünn; er wird durch Zugesellen der neu frei werdenden Chondriokonten immer dicker, so dass zuletzt der mächtige Bogenstrang, der den Kern von unten umfasst, gebildet wird (Fig. 47 und 48B). Dieser Bogen bildet mit jenem Bogen, der schon bei der sekundären Strangbildung entstanden, noch in diesem Stadium bestehen bleibt und über dem Kern verläuft, einen Kreis um den Kern (Fig. 48). Wenn in dem anderen Fall, wo nur ein Kegel mit breiter Basis vorhanden ist, die Abhebung der Chondriokonten an einer Seite des Kegels vor sich geht, so werden die freigewordenen Chondriokonten nach oben umgeschlagen, so dass die Spitze nach der Oberfläche zugekehrt ist (Fig. 51B und 52B). Dieser umgeschlagene Strang kann nachher an der Bildung des Ringes sich beteiligen (Fig. 52 und 53B).

Aus der oben angeführten Darstellung geht hervor, dass bei der Verschmälerung der Zellbasis, die durch den Druck benachbarter Zellen herbeigeführt wird, in den betreffenden Zellen zwei wichtige Vorgänge in die Erscheinung treten, nämlich: die Verschiebung der sekundären Stränge und die Abhebung des einen Teiles des Konus. Beide Vorgänge ziehen ja den Verklebungsprozess nach sich. Diese Verklebungen zusammen möchte ich „tertiäre Verklebung“ nennen. Da beide Vorgänge in mannigfaltiger Weise kombiniert werden können, so entstehen die verschiedenartigsten, oft verwickelten, mitochondrialen Stränge (Fig. 36—57).

Ich kehre nun zu der Beschreibung des Protoplasmas der Zellen der dritten Art zurück. Wie oben geschildert wurde, wird das Zellinnere mit der tertiären Verklebung immer klarer, strukturlos; nur findet man um den Kern, der nach der oberflächlichen Seite der Zelle sich verlagert hat, ein sehr verwickeltes Knäuel von geknickten Chondriokonten. In dieses Knäuel gehen oft die Chondriokonten über, die von den mitochondrialen Strängen sich abgetrennt haben (Fig. 39, 54 und 55). Es ist wahrscheinlich, dass das Knäuel in seinem Hauptteil die Enden der Stränge oder der abgetrennten Chondriokonten derselben darstellt.

Die hier gegebene Schilderung passt auf den grössten Teil der Rumpfgegend von 1,4 cm langen Larven; wenn man gegen

den Schwanz vorschreitet, so sieht man, dass die mit deutlichen Strängen versehenen Zellen sich immer mehr vermindern und dass dagegen die Zellen, die primäre und sekundäre, ja sogar gestreckte Chondriokonten in sich einschliessen, sich vermehren. In dem Schwanz sind die Zellen der dritten Art, die zerstreut unter den anderen liegen, nur auf die dem Schwanzmuskel entsprechenden Hautstellen beschränkt. In den dorsalen und ventralen Flossensäumen sind sie nicht entwickelt, ebenso nicht in der Hornhaut und in der Umgebung der Ausmündungsstelle der Kiemenhöhle.

B. 2 cm lange Larven.

Die Epidermis (Fig. 70) besteht wie im vorigen Stadium aus zwei Lagen von Zellen. In der basalen Reihe erkennt man unschwer zwei Arten von Zellen.

Die Zellen der ersten Art (Fig. 70 I, I' und Fig. 78) stimmen ihrer Form nach mit denen der ersten Art des vorigen Stadiums ganz überein: sie stellen die Form der abgestumpften Pyramide dar, die mit ihrer Basis auf der Cutis sitzt. Sie weisen in der Peripherie derselben, wie schon früher gezeigt wurde, wellige, miteinander annähernd parallel nach oben ziehende, relativ dickere, doch schwach färbbare, sekundäre mitochondriale Stränge auf, die oft in ihrem Verlauf durch schräg aufsteigende Seitenäste miteinander verbunden sein können. Die periphere Lage der Stränge kann man gut übersehen, wenn man tangentiale Schnitte der Epidermis anfertigt. An solchen Präparaten bemerkt man deutlich, dass quergeschnittene Stränge als rundliche oder längliche Punkte oder als kleine Plättchen unter der Oberfläche der Zelle sich befinden. Die Stränge verschmälern sich gegen das obere Ende der Zelle allmählich und dort über dem Kern verbinden sie sich miteinander zur Bogenbildung (Fig. 79).

Das untere Ende des Stranges wird allmählich dicker, teilt sich dann meist in mehrere kleinere Stränge, die mehr oder weniger voneinander sich entfernend, nach unten verlaufen. Diese kleinsten Stränge weichen ihrerseits in Fibrillen auseinander, durchsetzen die später zu schildernde homogene Basalschicht, die hier etwas dicker geworden ist als vorher, und erreichen zuletzt die Cutis (Fig. 78). Solches Verhalten ist in den Fig. 80 und 81 gut zu sehen, wo die Zellen quer geschnitten sind und daher die Querschnitte der Stränge als kleine Plättchen sichtbar sind, die

nach unten gegen den äussersten Rand der Basis in feinste Fibrillen zerfallen. Diese die homogene Basalschicht durchsetzenden Fibrillen, die als Chondriokonten zu deuten sind und durch Mitochondrienfärbung gut, doch blasser sich färben, sind wie die Stränge selbst in dem peripheren Teil der homogenen Basalschicht gelegen. Auch liegen auf der oberen Fläche der letzteren dünne oder dickere, meist geschlängelte mitochondriale Stränge (Fig. 70 I', 80 und 81), worauf ich später noch einmal zurückkomme.

Das Protoplasma färbt sich dunkler als das der gleich unten zu schildernden Zellen, enthält längere oder kürzere Chondriokonten, die in der Zelle überall verteilt sind. Der Kern ist gross, nach der vertikalen Richtung länglich, hat seine Lage in der Mitte der Zelle.

Die Zellen der zweiten Art (Fig. 70 II, II' und Fig. 71—77) verhalten sich der Form nach wie die der dritten Art des vorigen Stadiums: sie haben eine keilförmige Gestalt mit nach unten zugekehrten Kanten. Es entstehen daher je nach der Schnitterichtung zwei verschiedene Formen, von denen die eine (Fig. 70 II' und Fig. 75—77) kegelförmig mit nach unten gerichteter Spitze und die andere rechteckig ist (Fig. 70 II und Fig. 71—74); dieses Rechteck ist jedoch jetzt in den meisten Fällen in der Querrichtung schmaler geworden, besonders in seinem unteren Teil, und hat zugleich an Höhe ein wenig zugenommen, so dass es jetzt mehr dem Viereck mit der verschmälerten Basis sich nähert (Fig. 72—74).

Wir unterscheiden der Form und Anordnung nach zwei Typen der mitochondrialen Stränge, die nur schwer auf den vierten Typus des vorigen Stadiums zurückgeführt werden können.

Der erste Typus in diesem Stadium stimmt im wesentlichen mit dem vierten Typus des vorigen Stadiums überein: die Zellen haben einen den Kern von unten umfassenden, dickeren, quergestellten Strang, dessen beide Enden neben dem Kern aufsteigend, entweder frei enden oder, wie dies in den meisten Zellen der Fall ist, über dem Kern durch einen meist dünnen Faden zu einem Ring geschlossen werden, der den Kern umkreist. Von dem unteren dickeren Teil des Ringes gehen nach unten gegen die Cutis mehrere geschlängelte, dünnere und dickere mitochondriale Stränge, die entweder annähernd vertikal oder schief verlaufen und mit dem Kegel an der Cutis haften. In diesem Typus

kommen recht verwickelte Formen der Stränge vor, die durch die nachträgliche Abhebung der Chondriokonten und die Verklebung derselben zu den anderen Strängen entstanden sind (Fig. 74).

Der zweite Typus (Fig. 71—73) ist dadurch ausgezeichnet, dass der schon oben mehrfach geschilderte Ring, der den Kern umkreist, jetzt unter den Kern zu liegen kommt, so dass er von unten her den letzteren aufnimmt. Von diesem Ring erheben sich oft einige dünne mitochondriale Stränge, die mit leicht welligem Verlauf nach oben ziehen und neben oder über dem Kern in Haufen von Mitochondrien bzw. Chondriokonten, die den Kern umgeben, sich verlieren (Fig. 72 und 73). Diese Stränge sind sicher von den Chondriokonten abgeleitet, die nachträglich von der Cutis abgehoben und in dem Zellplasma frei geworden sind.

Ausser diesen zwei Haupttypen kommen in diesem Larvalstadium noch andere relativ einfachere und noch verwickeltere Formen vor, auf deren einzelne Beschreibung ich hier verzichten kann.

Das Protoplasma der Zellen der zweiten Art ist ganz homogen, wasserklar wie in dem vorigen Stadium; nur kommen um den Kern relativ dickere, doch blasser gefärbte Chondriokonten vor, Körnchenreihen, ja sogar Körner selbst, die oft weintraubenartig sich anhäufen (Fig. 71—74). Die Pigmentkörner sind auch jetzt zu bemerken (Pk.).

C. 4,5 cm lange Larven.

Wie im vorigen Stadium besteht die Epidermis (Fig. 85) aus zwei Schichten. Die basale Schicht weist zwei Arten von Zellen auf, die jetzt sowohl an Breite wie an Höhe stark zugenommen haben.

Die Zellen der ersten Art (Fig. 85 I, I'), die pyramidenförmig sind, zeigen aufsteigende, gegen das obere Ende der Zelle allmählich konvergierende, oft durch schräge Stränge miteinander verbundene, wellig verlaufende, mitochondriale Stränge. Die oberen Enden der Stränge sind über dem Kern miteinander verbunden, so dass dort oft eine netzartige Figur entsteht (Fig. 92), die auf dem vertikalen Schnitt der Epidermis bogenförmig erscheint (Fig. 85 I, I'). Wie schon erwähnt wurde, weichen die unteren

Enden der Stränge in feinste Fibrillen auseinander, welche die homogene Basalschicht in ihrem peripheren Rand durchsetzend die Cutis erreichen (Fig. 85 I). Auf der dicker gewordenen homogenen Basalschicht liegen horizontal gestellte, schlängelnd verlaufende Stränge, die jetzt in ihrem Wachstum den Höhepunkt erreichen (Fig. 85 I' hs und Fig. 93 hs).

Das Zellplasma ist klar, enthält kürzere oder längere Chondriokonten, die meist geknickt sind (Fig. 85 I'). Betreffs der Lage und Form des Kernes gilt hier wieder die von 2 cm langen Larven gegebene Beschreibung.

Die Form und Anordnung der mitochondrialen Stränge der anderen Zellen (Fig. 85 II und Fig. 86—91), die ihrer Form nach den Zellen der zweiten Art des vorigen Stadiums ähnlich sich verhalten, sind sehr verwickelt geworden. Doch lassen sich diese verschlungenen Stränge von den Strängen der Zellen der zweiten Art des vorigen Stadiums direkt ableiten, indem sie in zwei Eigentümlichkeiten von den letzteren sich unterscheiden. Erstens sind die Stränge, die dicker geworden sind als früher, in der allermannigfaltigsten Weise gewunden, so dass sie einen mehrmaligen Umweg in der Zelle beschreiben. Trotz dieses Umweges behalten die Stränge den schon früher geschilderten Ring bei, der sich durch genaues Verfolgen aus dem Gewirr der Stränge unschwer herausfinden lässt. Dieser sehr verwickelte Verlauf der Stränge ist durch mächtiges Längenwachstum der Chondriokonten bedingt, das in diesem Stadium deutlich einsetzt. Da das Längenwachstum der Stränge im Vergleich mit dem Zellwachstum schneller vor sich gehen wird, so müssen die länger gewordenen Stränge im relativ engen Raum sich zu winden gezwungen sein.

Die zweite Eigentümlichkeit dieses Stadiums besteht darin, dass die schon früher vorhandenen, von dem Ring nach oben ziehenden, um den Kern sich verlierenden, dünnen Stränge jetzt deutlich hervortreten und sich über dem Kern untereinander verbinden. Diese aufsteigenden Stränge, die in der Regel in Mehrzahl (2—4) vorhanden sind, entspringen meist von dem Ring, seltener von den Strängen, die von dem Ring nach unten ziehen (Fig. 90).

Der Zelleib ist wie früher ganz klar; nur um den Kern findet man einige körnige Einschlüsse, die nichts anderes als geknickte Chondriokonten selbst sind.

Wie man aus den Fig. 85—91 ersieht, haben die mitochondrialen Stränge jetzt in ihrer Entwicklung den Höhepunkt erreicht, sowohl an Länge wie an Dicke. Von nun an werden sie immer schmaler und verschwinden zuletzt, wie ich im folgenden schildern werde.

D. Larven, an denen die hinteren Extremitäten gut entwickelt sind.

Dieses Stadium ist dadurch ausgezeichnet, dass die mitochondrialen Stränge an einigen Stellen die Färbbarkeit für die spezifische Mitochondrienmethode verlieren und dass die keulenförmigen Epidermiszellen, die mit der Spitze der Cutis anhaften, mehr und mehr nach aussen verschoben werden, so dass die anfangs noch zweischichtig bleibende Epidermis zuletzt in die dreischichtige übergeht.

Wir betrachten zunächst den aus zwei Schichten bestehenden Teil der Epidermis in diesem Larvenstadium (Fig. 94).

Die pyramidenförmigen, mit der Basis auf der Cutis sitzenden Zellen weichen ihrer Form nach von denen des vorigen Stadiums nicht wesentlich ab (Fig. 94 I). Die mitochondrialen Stränge, die diese Zellen enthalten, stellen, wenn man die Präparate nur mit der Mitochondrienmethode ohne nachfolgende Plasmafärbung behandelt, bunt erscheinende, oft diskontinuierliche, meist in der mittleren Partie der Zelle deutlich bemerkbare Streifen dar: also haben die früheren mitochondrialen Stränge in ihrem oberen Teil, wo die sich konvergierenden Stränge miteinander verbunden sind, und in ihrem unteren Ende, wo die Stränge an der homogenen Basalschicht haften, ihre Färbbarkeit gegen Eisenhämatoxylin verloren. Färbt man dagegen die Schnitte, die vorher mit Eisenhämatoxylin behandelt waren, mit den gewöhnlichen Plasmafarbstoffen, wie Eosin, Säurefuchsin etc. (Fig. 94), oder besonders nach der Kromayerschen Methode für Protoplasmafasern, so treten die an Eisenhämatoxylin-Präparaten farblos oder höchstens blassgrau erschienenen Teile der Stränge deutlich hervor, so dass wir dadurch dasselbe Bild, das die Zellen des vorigen Stadiums gezeigt hatten, wieder vor unseren Augen haben. An solchen doppelt gefärbten Präparaten sieht man, dass die mitochondrialen Stränge an den mit Säurefuchsin gefärbten Strängen haften, so dass die letzteren gewissermassen das Skelett für die ersteren bilden

(Fig. 94 I). Die übrig gebliebenen Chondriokonten der Stränge stellen entweder relativ lange Fäden oder nur punktierte Linien dar. Auf der homogenen Basalschicht, die in diesem Stadium noch recht dick ist, liegen keine mitochondrialen Stränge mehr.

Das Zellprotoplasma ist klar und enthält um den grösseren Kern Mitochondrien oder kürzere oder längere geknickte Chondriokonten.

Die anderen keulenförmigen Zellen (Fig. 94 II), deren Spitze nach unten zugekehrt ist, sind jetzt bedeutend in die Länge ausgezogen, so dass das oberflächliche Ende derselben die obere Spitze der pyramidenförmigen Zellen weit überragt. Da der Kern bei diesem Längenwachstum nach dem oberen dickeren Ende der Zellen verlagert wird, so erscheint die Epidermis bei oberflächlicher Betrachtung aus drei Zellenlagen zu bestehen; doch ist dies in Wirklichkeit noch nicht der Fall, wie aus Fig. 94 ersichtlich ist. Die Stränge haben in der unteren Hälfte dieser Zellen meist zu einem dickeren Strang sich vereinigt. Er haftet mit seinem unteren Ende an der Cutis, steigt von dort gestreckt nach oben und zerfällt unter dem Kern in einige Stränge, die den Kern umkreisen. Auch können neben solchen typischen Formen noch andere verwickeltere vorkommen.

Dem Gesagten zufolge verhalten sich die Form und Anordnung der Stränge von den in dem früheren Stadium beschriebenen sehr verschiedenartig. Diese Umordnung ist sicher durch die Verlängerung der Zellen in vertikaler Richtung und die Verschmälerung der Basis derselben von allen Seiten bedingt. Durch die Verschmälerung werden alle Stränge, die im vorigen Stadium in Mehrzahl vorhanden waren, zu einem dicken Bündel vereinigt, das noch an der Cutis haften bleibt. Dies ist der Befund an den Präparaten, die mit den Plasmafarbstoffen oder nach Kromayer behandelt wurden. Färbt man dagegen nur mit Eisenhämatoxylin, so sind der obere Teil des dickeren Stranges und die den Kern umkreisenden dickeren Stränge schwarz gefärbt, so dass diese Teile mitochondriale Reaktion aufweisen (Fig. 94 II).

Das Zellplasma ist ganz klar; nur zeigt es um den Kern kürzere oder längere geknickte Chondriokonten.

2. In dem folgenden Stadium (Fig. 95) wird die untere Hälfte der keulenförmigen Zellen immer mehr verschmälert, so dass schliesslich die nach aussen verlagerte runde Zelle nur durch

einen dünnen Stiel in Verbindung mit der Cutis bleibt. In diesem Stiel verlaufen ein oder zwei dünne Stränge, die mit Eisenhämatoxylin nicht mehr färbbar sind, nach oben, um in die nahe dem Kern befindlichen, relativ dickeren Stränge, die noch Mitochondrienreaktion aufweisen, überzugehen (Fig. 95 II).

In den anderen Stellen der Epidermis sieht man zwischen der basalen und der oberflächlichen Schicht eine neue Schicht entstehen, deren Zellen einen mit Eisenhämatoxylin nur teilweise färbbaren, doch mit Säurefuchsin etc. gut erkennbaren Ring enthalten (Fig. 95 II'). Diese Zellen sind dadurch entstanden, dass die oben beschriebenen keulenförmigen Zellen (II) nach oben verschoben werden, indem ihr Stiel von der Cutis sich abtrennt. Mit dieser Abtrennung des Stieles verlieren auch die Stränge ihre Verbindung mit der Cutis, werden nach oben abgehoben und verkleben mit dem um den Kern gelegenen Teil der Stränge zu einem Ring, der den Kern umkreist. Fig. 95 II' zeigt eine Übergangsform zu solcher Ringbildung. Doch ist zu bemerken, dass die Abtrennung des Stieles von der Cutis nicht in allen Zellen sich vollzieht, sondern dass es Zellen gibt, welche diese Verbindung lange bewahren.

Sowohl die Stränge, die sich mit der Cutis verbinden, wie der Ring färben sich mit Eisenhämatoxylin nur stellenweise; in ihrer Hauptmasse zeigen sie diese Farbenreaktion nicht, doch lassen sie sich mit Plasmastoffen gut färben, wie schon oben beschrieben wurde.

Was ausserdem in diesem Larvenstadium eigentümlich ist, ist das Auftreten der sehr dünnen Zellmembran, die mit Säurefuchsin rot färbbar ist, wie Fig. 94 und 95 es zeigen.

E. Larven, an denen die vorderen Extremitäten noch in dem Kiemensack verborgen, doch dem Durchbruch sehr nahe sind.

In diesem Alter der Larven ist die Epidermis der Bauchseite drei- bis fünfschichtig geworden (Fig. 96 und 97). Die Zellen der basalen Reihe haben meist eine nach vertikaler Richtung ausgezogene, pyramidale Form. Zwischen denselben sieht man zuweilen jene keulenförmigen Zellen, die ebenfalls sich verlängert haben (Fig. 97 II). Die der basalen Reihe nächstfolgende Schicht weist meist spindelförmige oder längliche Zellen auf, die nach oben allmählich in die rundlichen Zellen übergehen, während die oberflächlichsten Zellen kubische Gestalt haben.

Werden die Schnitte aus diesem Stadium mit der Kromayerschen Methode behandelt (Fig. 97), so bemerkt man sowohl in den basalen, wie, wenn auch nicht häufiger, in den darauffolgenden Zellen mit Gentianaviolett gut färbbare Fäden.

In den basalen, lang ausgezogenen pyramidalen Zellen (Fig. 97 I) kommen zwei, drei oder mehrere dünne Fäden vor, die mit ihrem leicht welligen Verlauf fast vertikal gestellt sind. Sie nehmen unten mit kleinen konisch ausgebreiteten Enden, die an der Cutis haften und an denen einzelne Fibrillen zu bemerken sind, ihren Anfang, verlaufen, den länglichen Kern umfassend, nach oben, um dort, sich allmählich verdünnend, entweder frei zu enden oder über dem Kern einen Bogen zu bilden. Solche Verbindungen der Fäden können auch in ihrem Verlauf vorkommen (Fig. 97 I').

Diese Fäden stammen sicher von jenen früheren, die mitochondriale Reaktion nicht mehr aufweisenden Strängen, indem die letzteren immer mehr sich verdünnen und in vertikaler Richtung ausgezogen werden.

Ebenfalls enthält die keulenförmige Zelle (II) einen solchen Faden, der durch den Stiel nach oben ziehend oft in zwei oder mehrere Fäden sich teilt, die den Kern umfassen (Fig. 97).

In der darauffolgenden Schicht kommen zuweilen Zellen, die den Ring enthalten, vor (Fig. 97 III).

Färbt man nun die Schnitte aus demselben Stadium nur mit Eisenhämatoxylin, so erhält man das Bild, das Fig. 96 zeigt. In dieser Figur sind jene Fäden, die mit der Kromayerschen Methode färbbar sind, nicht sichtbar, sondern sind die Zellen sowohl der basalen, wie der darauffolgenden Schichten mit reichlicher Menge von geknickten Chondriokonten ausgefüllt.

In den länglichen Zellen der basalen oder anderen Schichten stellen die Chondriokonten meist längere, in sehr verwickelter Weise geknickte Fäden dar, die oft um den Kern nach der vertikalen Richtung orientiert sind. Sie häufen sich an dem oberen und unteren Ende des Kernes stark an, so dass dort ein fast unentwirrbares Knäuel gebildet wird. In den rundlichen Zellen der oberen Schichten ist die Anhäufung der Chondriokonten meist an der oberflächlichen Seite des Kernes gelegen, wo sie den letzteren kappenartig bedeckt (Fig. 96). Es muss auch hier bemerkt werden, dass die Chondriokonten meist bedeutende Länge haben, wie dies vor dem Erscheinen der mitochondrialen Stränge

der Fall war. Wenn man den Fokus in irgend einer Ebene der Schnitte einstellt, so hat es oft den Anschein, als ob hier nur Körnchen vorlägen. Bewegt man den Fokus mit Hilfe der Mikrometerschraube auf- und abwärts, so wird man sich bald davon überzeugen, dass, was früher als Körnchen erschienen war, nichts anderes als die in sehr verwickelter Weise geknickten Chondriokonten selbst sind.

Die erst im vorigen Stadium erschienene sehr dünne Zellmembran hat in diesem Stadium sowohl in den basalen wie in den darauffolgenden Zellen an Dicke zugenommen (Fig. 96 und 97). In dieser peripheren Schicht der Zelle, im Exoplasma, sind keine Chondriokonten zu bemerken, vielmehr sind die letzteren auf den inneren helleren, weich erscheinenden Teil der Zelle, das Endoplasma, beschränkt.

In den zwei zuletzt beschriebenen Larvenstadien sieht man als bemerkenswertes Vorkommnis, dass die mitochondrialen Stränge mehr und mehr ihre spezifische Reaktion gegen Eisenhämatoxylin verlieren, während sie mit den Plasmafarbstoffen, wie Säurefuchsin, Eosin etc. oder noch besser mit der Kromayerschen Methode dargestellt werden können. Aus diesem Umstand kann man schliessen, dass die mitochondrialen Stränge jetzt ihre chemische Eigenschaft verändert und zu den tinktoriell ganz anderen Strängen sich umgewandelt haben, indem sie anfangs noch ihre frühere Form und Anordnung ziemlich lang zu bewahren suchen, um dann mehr und mehr sich zu verdünnen. Worauf beruht nun diese chemische Umänderung der Stränge? Ich bin jetzt nicht in der Lage, diese Frage definitiv zu entscheiden. Nur möchte ich soviel bemerken, dass diese dünner gewordenen Stränge (Fig. 97) mit den Tonofibrillen keinesfalls zu vergleichen wären. Zu dieser Annahme führt erstens die Tatsache, dass die Form und Dicke dieser Fäden ganz anders sich verhalten als Tonofibrillen; sie sind in ihrem ganzen Verlauf nicht gleichmässig, das untere Ende derselben ist mehr oder weniger dicker als das obere. Zweitens kommt in den Fäden die untere konische Ausbreitung, welche in einzelne Fibrillen zerfällt, vor.

Diese Fäden schwinden nachher allmählich. Ob sie hier aufgelöst oder zu anderen Gebilden verwandelt werden, kann ich nicht mit Sicherheit entscheiden. Es liegt die Vermutung nahe, dass sie vielleicht in die einzelnen Fibrillen, aus denen sie zu-

sammengesetzt sind, zerfallen und in die oberflächliche Schicht der Zellen, das Exoplasma aufgenommen, und zu eigentlichen Tonofibrillen umgewandelt werden. Besonders bemerkt zu werden verdient, dass die unteren Enden der einzelnen Fibrillen in die Cutis sich fortsetzen und fest mit den Bindegewebsfibrillen sich verbinden, wie ich später im Kapitel über die Frage der Epidermis-Cutisgrenze eingehend behandeln werde. Durch diese feste Verbindung gewinnen die Fäden an Bedeutung; indem sie in Tonofibrillen sich umwandeln, übernehmen sie die Funktion, die basalen Epidermiszellen mit der Cutis in feste Verbindung zu bringen; daher müssten diese Fäden als die Vorläufer der Fibrillen, die von Kromayer als „Haftfasern“ bezeichnet wurden, betrachtet werden.

Gewiss wird ein Teil der mitochondrialen Stränge nach ihrer Umwandlung der chemischen Beschaffenheit in den Zellen aufgelöst. Was in dem Stadium, wo die Auflösung der Stränge vollzogen wird, auffallend ist, ist das massenhafte Auftreten der langen, geknickten Chondriokonten. Die letzteren vermehren sich immer mehr, in demselben Masse, als die Fäden sich verdünnen, als ob die ersteren auf Kosten der letzteren gebildet werden.

Fast gleichzeitig mit dem Verdünnen der Stränge und dem Auftreten der geknickten Chondriokonten beginnt die periphere Schicht der Zellen eine festere Beschaffenheit anzunehmen und ist zuerst als sehr dünne Membran, die mit Säurefuchsin rot färbbar ist, wahrzunehmen. Diese membranöse Schicht, die hier als Zellmembran zu deuten wäre, verdickt sich immer mehr, während das innere, heller scheinende weiche Protoplasma, das Endoplasma, mehr und mehr verdrängt wird. Diese Exoplasmaabildung ist nach Studnička (28) nichts anderes als Tonofibrillenbildung in der Zellperipherie, die in dem Ende des larvalen Stadiums Schritt für Schritt vor sich geht. Wie diese Exoplasmaabildung geschieht, muss eine schwierige Frage sein. Da die larvalen Epidermiszellen, wie es schon früher bemerkt wurde, als einziges Morphoplasma derselben nur die Mitochondrien bzw. Chondriokonten in sich einschliessen, und diese letzteren von einem gewissen Larvalstadium an zu den Bündeln, d. h. zu den mitochondrialen Strängen verklebt werden, so muss man annehmen, dass das Exoplasma auf Kosten der Chondriokonten, welche die Stränge zusammensetzen, gebildet würde. Es ist daher wahrscheinlich, dass ein Teil der chemisch

veränderten Fibrillen von den Strängen mehr und mehr abgetrennt und nach der Zellperipherie verschoben wird, um an der Bildung der Zellhaut, des Exoplasmas, sich zu beteiligen.

Durch diese Exoplasmaabildung haben die Epidermiszellen ihr definitives Stützgerüst erhalten; daher sind die mitochondrialen Stränge, die bisher in gewissem Sinne als Stützelemente gedient hatten, nicht mehr nötig und demzufolge kann ein Teil derselben, der nicht in das Exoplasma aufgenommen worden ist, in den Zellen aufgelöst werden. Mit dieser Auflösung der Stränge treten ungeheure Mengen von geknickten Chondriokonten auf, die auf das Endoplasma beschränkt sind und später zur Bildung des Exoplasmas, das noch verdickt werden muss, beitragen.

F. Verhalten der mitochondrialen Stränge bei der Mitose.

In der Beschreibung der Mitose in den mit den mitochondrialen Strängen besetzten Zellen beschränke ich mich auf die Epidermis der 1,4 cm langen Larven, an denen Mitosen am regesten und am häufigsten vorkommen.

Bei der Mitose der Zellen der dritten Art (Fig. 60—69) in der basalen Epidermisschicht von 1,4 cm langen Larven wandert der Kern, der bei den ruhenden Zellen ganz in dem oberflächlichen Teil der Zellen gelegen ist, schon in dem Vorbereitungsstadium mehr oder weniger gegen die Cutis herunter, so dass dadurch die tertiären mitochondrialen Stränge, wenn solche unter dem Kern vorhanden sind, etwas nach unten gedrückt werden (Fig. 60—62). Während dieser Vorbereitung der Kernteilung zerstreuen sich die geknickten Chondriokonten, die im Ruhestadium dicht um den Kern angesammelt waren, nach allen Seiten, so dass dadurch ihre Individualität deutlicher erkennbar ist (Fig. 60—62). Die Äquatorialplatte ist in diesem Stadium der Larven stets in der vertikalen Ebene eingestellt (Fig. 61), so dass geteilte Zellen nach beiden Seiten verschoben werden.

Mit dem Vorschreiten der Abschnürung der Zelle werden alle mitochondrialen Stränge, welche die Zellen quer durchziehen, nach und nach zusammengedrängt (Fig. 64), bis zuletzt in der Einschnürungsstelle nur ein einziger dickerer oder dünnerer Strang, der mit einer dünnen Plasmaschicht überzogen ist und die Stränge der beiden getrennten Zellen miteinander verbindet, übrig bleibt (Fig. 66 und 67).

Nach der vollständigen Teilung des Zelleibes kann der Strang, der beide geteilte Zellen miteinander verbindet, merkwürdigerweise lange Zeit übrig bleiben, wie Fig. 68 dies zeigt. Ich habe sogar einen solchen Faden in einem Stadium gesehen, wo der geteilte Kern in der Anaphase schon die Netzstruktur des ruhenden Kernes gezeigt hat (Fig. 69). Da bei den ruhenden Zellen keine die Zellen untereinander verbindenden Stränge gefunden werden, so sind da zwei Möglichkeiten über die Schicksale des Verbindungsfadens; entweder bleibt er in der weiteren Zellgeneration als solcher bestehen, indem er nur seine Färbbarkeit gegen Eisenhämatoxylin verliert, oder er wird in das Zellinnere wieder zurückgezogen. Welche von diesen Möglichkeiten der Wirklichkeit entspricht, kann ich einstweilen nicht mit Sicherheit entscheiden.

Auch das Verhalten der zerstreuten Chondriokonten bei der Mitose der die Stränge enthaltenden Zellen ist dasselbe, wie ich es früher bei der Mitose der nur die Chondriokonten in sich einschliessenden Zellen beschrieben habe.

Wie sich aus dieser Beschreibung und den Abbildungen ergibt, erfahren die mitochondrialen Stränge bei der Mitose keine bestimmte Veränderung, Umordnung etc. Sie verhalten sich hierbei nur passiv.

G. Kritische Bemerkungen.

Wie schon oben auseinandergesetzt wurde, enthalten die Epidermiszellen der Batrachierlarven von einem frühen Entwicklungsstadium bis zu einer gewissen Larvenperiode eigentümlich sich verhaltende, intrazelluläre Gebilde, die zuerst von Eberth beobachtet und dann von mehreren Autoren nachuntersucht, doch sowohl ihrer Form wie ihrer Deutung nach sehr verschiedentlich beurteilt worden sind. Ich bin der Meinung, dass trotz dieser Meinungsverschiedenheiten die intrazellulären Gebilde, von denen die einzelnen Autoren schreiben, mit meinen mitochondrialen Strängen derselben Reihe angehören, wie ich weiter unten genauer schildern werde.

Was zunächst die Art und Weise wie den Zeitpunkt der Entstehung dieser Gebilde anbetrifft, so bin ich der Ansicht, dass sie schon in der früheren Larvenperiode (früher als 1,4 cm lange Larven) mit der primären Verklebung der Chondriokonten in den Epidermiszellen erscheinen. Doch wurden sie in dem Stadium der primären und sekundären Verklebung bis jetzt von niemand be-

obachtet: es muss dies daran liegen, dass die Autoren, die sich mit den fraglichen Zelleinschlüssen beschäftigt haben, keine spezifischen Färbungsmethoden für sie anwandten, und zwar haben sie meist sich entweder nur der Zerzupfungsmethode oder der einfachen Färbungsverfahren bedient. Zweitens haben sie die jüngste Periode der Larven nicht untersucht, wo die primäre, die sekundäre, ja sogar die tertiäre Verklebung vollzogen werden. Drittens sind die primären Bündel und die jüngste Stufe der sekundären sehr fein und treten selbst durch die spezifische Mitochondrienmethode oft nicht so deutlich hervor, wie man die tertiären Bündel schon durch die einfachen Färbungsmethoden, z. B. Eosinfärbung, deutlich genug beobachten kann, wie die verschiedenen Autoren dies getan haben.

Eberth (3) fand die intrazellulären Gebilde erst an Froschlaven von $3\frac{1}{2}$ cm. Nach ihm sind ihre jüngsten Entwicklungsstufen „schmale Spindeln von ca. 0,001 mm Durchmesser und 0,021 mm Länge“. Auch schreibt er, „sie sind nichts anderes als ein Abscheidungsprodukt des Zellprotoplasmas, das meist in der Umgebung des Kerns zuerst auftritt“. Er hat vielleicht mitochondriale Stränge im Stadium der tertiären Verklebung gesehen, wo oft schmale spindelförmige Stränge vorkommen können; doch entgingen ihm die feinen, gegen die Cutis auseinanderweichenden Fibrillen, welche die Stränge nach unten abgeben. Auch ergibt sich aus seinen Fig. 10 und 11, dass die kurze Spindeln enthaltenden Zellen von keulenförmiger Gestalt sind. In den Zellen von solcher Gestalt pflegen nach meiner Beobachtung nur tertiäre Stränge enthalten zu sein, wie ich früher präzisiert habe.

Leydig (12), der die Gebilde zur Sekretion in Beziehung zu bringen sucht, beschreibt nur, dass „derselbe in einem besonderen hellen Raum der Zelle, in einem Sekretbläschen entstehe“.

Frenkel (5) ist besonders auf die Frage der Entstehungsart der intrazellulären Gebilde, die er mit dem Erneuerungs- und Untergangsvorgang der Epidermiszellen in Beziehung bringt, näher eingegangen. Er gibt an, dass die Gebilde in einem ganz frühen Stadium der Larven vermisst werden und dass erst in einem weit vorgerückten Entwicklungsstadium die Zellkerne sich in ihrer Randschicht zu kugeligen, aneinander liegenden Körpern differenzieren, die den inneren blasser gefärbten Rest des Kernes, von dem sie ziemlich scharf abgegrenzt sind, kappenartig umgeben und mit Alaunhämatoxylin intensiv violett gefärbt sind. Indem diese kugelige Randschicht sich chemisch verändert, nimmt sie immer mehr die Reaktion der intrazellulären Gebilde an, trennt sich von dem Rest des Kernes ab und gleicht dann durchaus in ihrem Verhalten den typischen intrazellulären Gebilden. Also seien nach ihm diese Gebilde nicht von Anfang an in der Zelle vorhanden, sondern entstehen erst aus dem Kern, wenn der letztere mit der Verschiebung der Epidermiszellen eine gewisse Umbildung erfahren hat.

Die von Frenkel angegebene Entstehungsweise der intrazellulären Gebilde muss auf Grund meiner Untersuchungen zurückgewiesen werden. Vor allem ist es mir nicht begreiflich, was die aus Kügelchen bestehende Schicht von Frenkel bedeutet. Soviel aus meinen Untersuchungen, die an Alaunhämatoxylin- und Eisenhämatoxylin-Präparaten gemacht wurden, sich ergibt, konnte ich niemals solche Haufen von Körnchen in dem Kern beobachten. Zwar hat der Kern ausser einem oder zwei grösseren Kernkörperchen zerstreut liegende Körnchen, die nichts anderes als die Knotenpunkte der sehr dünnen Kerngerüste sind. Solche Körnchen kommen auch unter der Kernmembran dicht ihr anliegend vor, doch bilden sie niemals dichte Reihen, sondern sind stets weit voneinander getrennt.

Wie früher angedeutet wurde, kommen in einem gewissen Entwicklungsstadium der Larven um den Kern zwei Arten von Körnchen vor: die einen sind Pigmentkörnchen, die meist in der oberflächlichen Seite des Kerns liegen und zum Haufen sich ansammeln können. Die anderen sind kugelige Körnchen, die in Reihen oder in weintraubenartigen Anhäufungen auftreten und mit der Mitochondriamethode sich gut färben lassen (s. Fig. 71—77). Diese Körnchen können, wenn man Flächenschnitte, wie sie Frenkel vor sich hatte, untersucht, leicht die Täuschung hervorrufen, als ob sie im Innern des Kernes gelegen wären.

Was die Struktur der intrazellulären Gebilde betrifft, so habe ich schon gezeigt, dass sie aus feinen Fibrillen, d. h. aus gestreckten Chondriokonten bestehen, durch deren Verklebung sie gebildet werden. Wo der Verklebungsprozess einem gewissen Widerstand begegnet, wie z. B. in der Nähe der Cutis, bleiben die Fibrillen lange Zeit unverklebt, so dass hier ihre Individualität gut zu übersehen ist. Auch lässt der Strang vielfach eine feine Streifung erkennen, die auf seine Zusammensetzung aus Chondriokonten hindeutet, wie ich früher geschildert habe.

Drei Ansichten bestehen über die Struktur dieser Gebilde. Mehrere Autoren, wie Eberth, Pfitzner, Canini, Kölliker, Loewenthal schreiben ihnen eine homogene Beschaffenheit zu.

Eberth (3) beschreibt, dass diese Gebilde „aus einer glänzenden, homogenen, kolloidähnlichen, von Reagentien schwer angreifbaren, ziemlich festen Substanz“ bestehen. Nach ihm lassen sich in vielen dieser Körper eine hellere stärker lichtbrechende Rinde und eine weniger glänzende Achenschicht unterscheiden, während andere aus den feinen leicht geschlängelten

Fibrillen, die sich gegen die äusseren Enden zerfasern, zu bestehen scheinen, so dass er für einen Teil der Gebilde den fibrillären Bau anerkennt.

Pfitzner (20) gibt wie Eberth die Gebilde als „glänzende, stark lichtbrechende Fasern“ an, die mit Safranin sich deutlich rot färben lassen.

Nach Loewenthal (13) stellen die fraglichen Gebilde „eine ganz homogene Beschaffenheit“ dar. „Von Granulis“, fügt er hinzu, „ist an denselben auch mit Immersionssystemen nichts zu entdecken. Die Konturen der Fäden sind glatt . . .“

Aus den Abbildungen Caninis (1) und Köllikers (8) ergibt es sich, dass diese Autoren nur ganz homogene Bildungen gesehen haben, wenn sie auch darüber nichts beschreiben.

Die Homogenität, die ich in meiner Untersuchung nicht bestätigen kann, ist wahrscheinlich durch die von den oben genannten Autoren angewandte Methode zu erklären. Eberth hat die mit Silbersalpeter oder Chlorgold behandelte Haut zerzupft. Pfitzner und Canini haben das in Chromsäure fixierte oder mit Goldchlorid vorbehandelte Objekt mit Safranin gefärbt. Loewenthal bediente sich der Hämalaun- und Eosinfärbung, während Kölliker frisch untersuchte. Durch solche einfache Methoden lässt sich die fibrilläre Struktur der intrazellulären Gebilde nicht deutlich beobachten. Auch habe ich versuchsweise die Schnitte mit Eosin oder Safranin behandelt und dadurch nur rotgefärbte Gebilde erhalten, die in ihrem Innern keine Struktur erkennen liessen, wie dies die Autoren beschrieben und auch abgebildet haben.

Macallum (14) hat gefunden, dass durch die Achse der mit Nigrosin schwarz färbbaren Eberthschen Gebilde in den meisten Fällen eine oder mehrere mit Safranin rot gefärbte Fäden verlaufen, die er für Nervenendigungen hält.

Auch diese Sonderung in einen zentralen und einen peripheren Teil scheint mir auf ungenügender Färbung oder misslungener Entfärbung zu beruhen. Macallum selbst gibt an, dass „the method of staining these fibrils is not always successful. Nigrosine stains the figure of Eberth, while safranine attacks the fibrils. If, however, the section to be stained be left in the safranine solution too long, the figures take up the colour and have now a dull red tint. On the other hand, there is always great difficulty in preventing all the safranine from being extracted with absolute alcohol“. Wie aus diesem Satz hervorgeht, entfärbt sich der mit Nigrosin gefärbte Schnitt teilweise in der Safraninlösung und wird dabei durch letztere doppelt gefärbt, so dass

„a dull red tint“ entsteht. Wird dagegen der mit Nigrosin gefärbte Schnitt, ehe er in der Safraninlösung entfärbt wurde, aus der letzteren herausgezogen und in absolutem Alkohol mässig differenziert, so dass in solchem doppelt gefärbten Schnitt das Safranin aus der Peripherie der intrazellulären Gebilde allmählich ausgezogen wird, bis zuletzt die Färbung nur in der Achse der Gebilde übrig bleibt, während Nigrosin sich dabei nicht entfärbt, so entstehen die von Macallum beschriebenen schwarz gefärbten Eberth'schen Figuren mit den ihre Achse durchziehenden, mit Safranin rot gefärbten Fäden, die fälschlicherweise von ihm für Nervenendigungen gehalten wurden.

Meinen Beobachtungen am nächsten stehen die Beschreibungen Leydigs und Studničkas.

Leydig (12) beschreibt: „Haben die Fäden eine gewisse Dicke, so erweisen sie sich bei näherem Zusehen als eine Vereinigung feinsten Fäserchen“. Dann fügt er hinzu, dass die Gebilde oft gegen den Fuss der Zelle sich teilen und sich in Büschel feinsten Fäserchen auflösen.

Studnička (28), der sich des Eisenhämatoxylin bediente, gibt die intrazellulären Gebilde als Fibrillenbündel an, die „sich mit kegelförmig verbreiterten Enden, in denen sich die Elementarfibrillen etwas voneinander entfernen, an der Basalfläche der Zellen ansetzen“.

Die Beschreibungen, die Cohn (2) und Schuberg (26) über ähnliche Gebilde von der Proteusepidermis angeben, lassen sich mit den an Anurenlarven gefundenen nicht direkt vergleichen, so dass ich auf sie nicht näher einzugehen brauche.

Wie schon oben angedeutet wurde, sind die Angaben über die Form und Anordnung der intrazellulären Gebilde, von denen die Autoren berichten, sehr verschiedenartig, als ob sie ganz verschiedene Dinge vor Augen gehabt hätten. Dies muss erstens dem Umstand zugeschrieben werden, dass die Objekte, welche die einzelnen Autoren untersuchten, sich auf verschiedenen Entwicklungsstadien befanden. Zweitens sind die von ihnen angewandten Methoden, wie besonders das Färbungsverfahren, mannigfaltig und zum Teil ungenügend, so dass dasselbe Ding ein verschiedenes Aussehen gewinnen musste.

In der Literatur gibt es keine Angabe über die Gebilde, die meinen primären Strängen zu entsprechen scheinen.

Nach Eberth (3) haben die Gebilde bald die Gestalt von feinen oder größeren Spindeln, die in Einzahl oder Mehrzahl in den Zellen vorhanden sind, bald die von Stäbchen oder verschieden dicken Fäden mit peitschenförmigem Anhang, dann wieder die von geschlossenen oder offenen Ringen. Er untersuchte das Larvenstadium, wo die basalen Epidermiszellen meist von keulenförmiger Gestalt und mit ihrer Spitze nach unten gegen die Cutis zugekehrt sind. Aus dieser Beschreibung und seinen Figuren kann man schliessen, dass er ein recht spätes Stadium ($3\frac{1}{2}$ cm lange Larve!), das etwa meinen Fig. 94 und 95 entspricht, untersucht hat. Zwar hat er auf seinen Tafeln drei Arten von Zellen abgebildet, nämlich: keulenförmige (Fig. 10, 11, 16—19, 21, 24 und 25), rundliche (Fig. 12 A) und pyramidenförmige Zellen mit der nach oben zugekehrten Spitze (Fig. 14 B, 22 A und 23). Vergleicht man seine Figuren mit den meinigen (Fig. 94 und 95), so wird man leicht die von ihm abgebildeten Zellen darin wiederfinden. Seine keulenförmigen, die Spitze nach unten zugekehrten Zellen entsprechen der Zelle II in Fig. 94 und 95, wo die Gebilde in ihrem größeren Umriss, wie Eberth angibt, Spindeln, Stäbchen etc. darstellen. Auch seine Fig. 14 B, 22 A und 23 gleichen der Zelle I. Was die von ihm abgebildeten, mit dem Ring versehenen Zellen anbetrifft, so stellen sie sicher von der Cutis abgetrennte und nach oben verschobene Zellen dar, die auf Fig. 95 II von mir dargestellt sind. Die Ähnlichkeit der Gebilde liegt nur in ihrem größeren Umriss; dünne Fäden und feinere Struktur hat er nicht abgebildet.

Canini (1) erwähnt „eine Art Krater, in dessen Höhlung der Kern zur Hälfte liegt, während von dem Rande dieses Kraters ein Reif sich erhebt, welcher sich über den Kern legt, oder eine Anzahl Spangen, die eine Art Krone bilden ...“. Auch schreibt er: „In den anderen Fällen steht ein aufrechter Ring in den Zellen, in dessen Höhlung der Kern steckt, oder es erhalten sich zwei konische Gebilde, welche über dem Kern zusammenlaufen wie ein Torbogen“. Nach dieser Beschreibung hat er vielleicht das Bild gesehen, das ich in meinen Fig. 41, 42, 45—48 abbilde. Obwohl er selbst angibt, dass seine Zeichnungen der Eberth'schen am nächsten stehen, scheint es mir jedoch, nach seiner Beschreibung und Abbildung zu beurteilen, dass er ein noch früheres Stadium als das von Eberth beschriebene untersucht hat, das vielmehr meiner Fig. 70 entspricht.

Wenn man Mitrophanows (18) Zeichnung mit der Caninischen vergleicht, so springt es sofort in die Augen, dass sie miteinander grosse Ähnlichkeit haben, wenn auch er, wie Canini, die von Eberth angegebenen Formverschiedenheiten annimmt.

Kölliker (8), der auch die von Eberth abgebildeten Formen für ganz gewöhnlich hält, fand ferner in der Epidermis der Rumpfgegend „viel verwickeltere, in denen der Kern der betreffenden Zellen von einem geschlossenen fischreusenähnlichen Korbe von 15—20 Stäben umfasst wird“. Diese Zellen, die er auf seinen Fig. 11 c, c' zeichnet, wenn sie auch etwas schematisiert sind, scheinen den Zellen zu entsprechen, die auf den Eberth'schen Fig. 14 B und 23, sowie auf meinen Fig. 70 I, 78, 94 und 95 I dargestellt sind. Es handelt sich hier um Basalzellen, die fast vertikal gestellte, palisadenartig angeordnete mitochondriale Stränge in sich einschliessen.

Frenkel (5) bildet die Epidermis in ihrem zwei- und dreischichtigen Stadium ab. Die Gebilde, die auf seinen Fig. 1 und 2 gezeigt sind, weisen viel verwickeltere Formen auf, als es seine Vorgänger abgebildet haben. Ihrer Anordnung nach haben die von ihm gezeichneten Gebilde mit meinen Fig. 85 II und 86—90 grosse Ähnlichkeit, die aus der Epidermis von 4,5 cm langen Larven entnommen wurden. Als einen besonderen Typus beschreibt er in jungen Larven glänzend rote Körner um den Kern, die „entweder isoliert sind, oder untereinander durch Fäden oder eine homogene Substanz in Verbindung stehen“. Solche Formen habe ich nie beobachtet; vielleicht hat Frenkel dabei Mitochondrien gesehen, die entweder als isolierte Körnchen oder als Körnchenreihen oder -gruppen auftreten, wie aus Fig. 72 bis 77 ersichtlich ist.

Macallum (14) fand die Eberth'schen Gebilde in allen Reihen der Epidermis mit Ausnahme der oberflächlichsten; am meisten sind sie in den Basalzellen entwickelt, wenn die Epidermis vier- oder fünfschichtig geworden ist. Die Formen der Gebilde stehen nach seinen Beschreibungen und Abbildungen (Fig. 1 und 2) den von Eberth beschriebenen sehr nahe, so dass er fast gleiche Larvenstadien wie Eberth untersucht hat. Er bildet die Gebilde entweder als Pyramidenform oder als lange Stäbe ab, die oft den Kern in sich einschliessen, dann wieder als Ring, der um den Kern gelagert ist. Das ganze Bild stimmt mit meinen Fig. 94, 95 und 97 gut überein. Seine pyramidenförmigen Gebilde entsprechen den Gebilden, die in den Zellen I meiner Figuren enthalten sind, während die langen Stäbe, die oft in ihrem oberen Ende den Kern umgeben, den in den keulenförmigen Zellen (II) enthaltenen Strängen, die ihre Verbindung mit der Cutis noch behalten (Fig. 75 und 95 II) gleichzusetzen sind. Wenn die Verbindung der Gebilde mit der Cutis verloren geht und die Zellen nach oben verschoben werden, so kommen ründliche Zellen mit ringförmigen Gebilden zustande, wie Macallum auch solche abgebildet hat. Ausserdem fand er durch die Achse der Gebilde verlaufende Fäden, die er für Nervenendigungen hält. Dass diese wahrscheinlich durch die ungenügende Färbung und unzweckmässige Entfärbung der Schnitte hervorgerufen worden sind, habe ich früher gezeigt.

Studnička (28) hat bei Bombinator „dicke, unten kegelförmig verbreiterte Fibrillenbündel, die sich im oberen Teil der Zelle eintach umbiegen“, beobachtet; bei Hyla sind nach ihm die Fibrillenbündel besonders auf den Basalabschnitt der Zelle beschränkt, und in dem oberen Teil, wo auch der Zellkern liegt, steigen nur verhältnismässig dünne, fadenförmig sich verzweigende Bündel, von denen man dort immer mehrere beobachten kann. Diese Formen der Fibrillenbündel sieht man auch unter anderen in meinen Fig. 42 a und 54, wo die Stränge mit der kegelförmigen Ausbreitung nach oben zu sich verdünnend, in einen oder einige dünne Fäden übergehen. „Die schönsten Fibrillenbündel“ hat er bei Pelobateslarven beobachtet, wo „in den Basalzellen auffallend dicke Bündel, welche, ohne sich zu verdünnen, bis in den obersten Teil der Zellen reichen, so dass der Zellkern inmitten des auf diese Weise entstandenen Gerüsts zu liegen kommt“. Auf seiner Fig. 71 bildet er zwei Basalzellen von Pelobateslarven ab, von denen die rechte, in der mehrere Fibrillenbündel fast vertikal nach oben verlaufen, meiner Fig. 70 I

gleicht, während die linke Zelle, die ein grosses kegelförmiges Bündel enthält, der Fig. 39 ähnlich ist.

Aus seinen Beschreibungen und Abbildungen geht hervor, dass er ein recht frühes Stadium untersucht hat, das dem Stadium von 1,4 cm langen Larven von *Rhacophorus* entspricht. Doch hat er gestreckte Chondriokonten und primäre mitochondriale Stränge nicht beobachtet, ebensowenig das spätere Stadium, das durch Ringbildung um oder unter dem Kern sich auszeichnet.

Loewenthal (13) hat zwei Arten von Zellen: die pyramidenförmigen und die keulenförmigen mit nach unten zugekehrter Spitze, nämlich die beiden Zellarten, die von einem gewissen Larvalstadium an in der Basalschicht zu unterscheiden sind, richtig erkannt. In den oben bauchig erweiterten Zellen findet er büschelförmig aufsteigende, gewundene Fadenkomplexe, die meist unter dem Kern gelegen sind. Ausser diesen längsverlaufenden Fäden finden sich unter dem Kern quer verlaufende, die oft in der Längsrichtung sich umbiegen. In den anderen pyramidenförmigen Zellen, die zwischen den oben beschriebenen gelegen sind, verlaufen die Gebilde mit weniger deutlichen Windungen nach oben konvergierend. Die oberen Enden der Gebilde überschreiten die Höhe des Kernes und gehen oft in die über dem Kern gelegenen bogenförmigen Fäden über. Diese beiden Zellarten und die in denselben enthaltenen Gebilde sind in meinen Fig. 70 und 85 (I, I', II) wiederzufinden, und zwar in noch detaillierterer Weise. Auch fand er in den Zellen, die zwischen den basalen und oberflächlichen gelegen sind, Fäden, die hauptsächlich eine konzentrische Anordnung um den Kern aufweisen.

Am meisten unterscheiden sich meine Beobachtungen von dem Befunde Pfitzners (20). Pfitzner gibt an, dass die basalen Epidermiszellen je zwei mit Safranin rot färbbare Fasern enthalten, die von unten her in die Zelle eintreten und in ihrem Verlauf fast gleichmässige Dicke haben. Diese Fasern können in den Zellen einige Windungen beschreiben und endigen stets mit einem Knöpfchen. Solche Regelmässigkeit ihrer Zahl und Anordnung habe ich in der grossen Anzahl von Präparaten nie gefunden, wie auch Mitrophanow, Kölliker, Loewenthal u. a. sich in diesem Sinne ausdrücken. Ich bin der Meinung, dass solche Fasern, die Pfitzner für die Nervenendigungen hält, sicher identische Gebilde mit den mitochondrialen Strängen darstellen, die durch das ungenügende Färbungsverfahren nicht in ihrer vollen Ausdehnung, sondern nur in Bruchstücken gefärbt wurden.

Was das Endköpfchen, das Pfitzner (20), Canini (1) und Frenkel (5) in dem freien Ende der Gebilde immer gefunden haben, anbetrifft, so liegt hier sicher eine optische Täuschung vor. Wenn die Stränge an irgend einer Stelle ihres Verlaufes sich so umbiegen, dass umgebogene Fäden in die optische Achse zu liegen kommen, so erscheint diese Stelle, welche sich durch intensive Färbung und stärkere Lichtbrechung auszeichnet, wie verdickt, als ob hier ein Knöpfchen vorläge.

Betreffs der Beziehung des unteren Endes der Gebilde zu der Cutis bin ich der Meinung, dass die Stränge, wie ich später genauer zeigen werde, in die Cutis eindringen, und zwar in der Weise, dass sie bezw. die Fibrillen derselben, indem sie ihre

chemische Beschaffenheit ändern, ununterbrochen in die Bindegewebsfibrillen der Cutis übergehen. Diese Annahme der direkten Verbindung der Gebilde mit der Cutis wird erst begreiflich sein, wenn man die Entwicklungsgeschichte der Cutis genauer verfolgt. Ich werde auf diese Frage später noch einmal zurückkommen.

Eberth (3) ist der Ansicht, dass „besonders die längeren fadenförmigen Körper das verschmälerte untere Ende der sie umschliessenden Zellen durchbrechen, nachdem vorher die Rindenschicht der letzteren resorbiert wurde . . . Faltet man die mit der Epidermis noch überkleidete Cutis, so sieht man die Zellen kappenförmig über die eingeschlossenen Körper gestülpt, die sehr konstant mit verbreiterten Füßen und zwar ziemlich fest der Cutis aufsitzen“. Zwar haftet, wie Eberth richtig angibt, das untere Ende der Gebilde ziemlich fest an der Cutis, doch diese Verbindung vollzieht sich nicht sekundär, sondern nach meinen Untersuchungen schon früh in dem Stadium der primären mitochondrialen Stränge. Das von ihm beschriebene Hervortreten des unteren Endes der Gebilde von den Zellen ist sicher Kunstprodukt, wenn er selbst es auch in Abrede stellt. Auch habe ich ein solches Bild oftmals gesehen, wenn die Epidermis durch die Messerschneide von der Cutis abgehoben wird. In solchen Fällen tritt das untere Ende der Gebilde, das meist der Cutis anhaften bleibt, von den Zellen mehr oder weniger hervor, ja zuweilen sieht man sogar, dass das ganze Gebilde aus den letzteren herausgezogen und zu einem ziemlich langen Strang gestreckt wird. Falls der Schnitt gut gelingt, sieht man solche Bilder nirgends.

Auch fand Leydig (12) ein solches Hervortreten der Gebilde in wenigen Fällen; „in den meisten Fällen“, sagt er, „überschreiten die Fäden den Rahmen der Zelle nicht“.

Studnička (28) bespricht nur, dass die Fibrillenbündel mit ihrem einen Ende sich im Niveau der Basalfäche der Zelle an der Cutis befestigen.

Die Autoren, welche die intrazellulären Gebilde für die Nervenendigungen halten — ich nenne Pfitzner, Canini, Gaule und Macallum — nehmen die Verbindung der Gebilde mit den Nerven an.

Pfitzner (20) beschreibt: „Aus diesem Unterhautbindegewebe sieht man glänzende, stark lichtbrechende Fasern an das Corium herantreten; sie verlaufen häufig anfangs noch parallel

der Oberfläche und biegen dann gegen dieselbe um, um mehr oder minder senkrecht das Corium zu durchsetzen und in die Epithellage einzutreten, wo sie teils in den Basalzellen, teils, indem sie zwischen diesen Zellen aufwärts steigen, in den obersten Zellen endigen. Sowohl im Unterhautbindegewebe wie im Corium, bisweilen auch noch in der Epidermis, sieht man sie dichotomische Teilungen eingehen, ohne merklich an Durchmesser zu verlieren und ohne besondere Erscheinungen, wie Verdickungen oder Einschnürungen, aufzuweisen.“

Es liegt hier gewiss ein Fehler in der Technik der Schnittanfertigung vor. Wie ich oben bemerkt habe, werden durch die Abhebung der Epidermis von der Cutis, was zuweilen vorkommt, die intrazellulären Gebilde aus der Zelle herausgezogen. Und dabei kann ihr unteres Ende entweder an der Cutis haften bleiben oder von der letzteren sich ganz abtrennen. Wenn in dem letzteren Fall die abgehobenen Fasern sich wieder auf die Cutis legen, so würde das Bild, das Pfitzner auf seiner Fig. 2 abbildet, zustande kommen. Dasselbe gilt auch von der vermeintlichen Nervenfaser, die Macallum (14) auf seiner Fig. 1 n“ abbildet.

Ferner hat Pfitzner an den mit Safranin gefärbten Präparaten, bei denen, nach seiner Angabe, wegen der Einbettung in Dammarlack die Fortsetzung der Fasern im Corium und Unterhautbindegewebe nicht zu verfolgen ist, gesehen, dass es bisweilen den Anschein gewinnt, „als sei die Faser an der Basis zu einer schwimnhautartigen Membran aufgelöst“. Er hat solche Stellen genauer untersucht und glaubt, sich davon überzeugt zu haben, dass hier eine optische Täuschung vorliegt. Nach meiner Meinung stellt dagegen eine solche schwimnhautartige Stelle die konische Ausbreitung des unteren Endes der intrazellulären Gebilde dar, welche auch Canini, Leydig, Studnička und ich beschrieben und abgebildet haben, so dass, was von Pfitzner als optische Täuschung bezeichnet wurde, vielmehr dem wirklichen Verhältnis entspricht.

Auch hat Canini (1) gesehen, dass von der Basis der Gebilde, die er ziemlich naturtreu wiedergibt, feine Fäserchen durch die Cutis senkrecht absteigen, um das Unterhautbindegewebe zu erreichen. Er hält es für wahrscheinlich, dass diese Fäserchen die Nervenendigungen darstellen. Ich möchte auch hier die Ein-

wendung machen, dass diese Fasern mit den Nerven nichts zu tun haben, sondern nichts anderes als die die Cutis durchsetzenden Bindegewebsfasern oder Fortsätze der Bindegewebszellen sind, welche, wie schon Schuberg (25, 26) gezeigt hat, erst sekundär mit den Epidermiszellen sich verbinden.

Dass über die Bedeutung der intrazellulären Gebilde die Meinungen der Autoren auseinandergehen, wurde früher kurz erwähnt.

Wie bekannt, erklären Pfitzner (20), Canini (1), Gaule (20), Frenkel (5) und Macallum (14) die intrazellulären Gebilde für die Nervenendigungen. Ich will mich hier nicht auf die Frage über die Nervenendigungen einlassen; nur muss ich soviel bemerken, dass die Annahme der Nervennatur der fraglichen Gebilde um so mehr auf sehr schwachen Füßen steht, als einerseits von mehreren Seiten wiederholt gezeigt worden ist, dass nicht nur in der Amphibienepidermis, sondern auch in der Epidermis der anderen Tiere, besonders der Säugetiere, die interzelluläre Nervenendigung als einziger Modus vorkommt und dass andererseits von mir der Nachweis geführt wurde, dass die sogen. Eberth'schen intrazellulären Gebilde, die bis dato rätselhaft geblieben sind, nichts anderes als verklebte Mitochondrien bzw. Chondriokonten in den Epidermiszellen sind und dass sie niemals mit den Nerven sich verbinden.

Leydig (12) hat die Gebilde mit den Byssusfäden der Gastropoden verglichen und meint, dass die Bildung der intrazellulären Gebilde als eine Art sekretorischen Prozesses aufzufassen sei. Er schreibt: „Hier bei den Batrachiern — kann man sich vorstellen — übernimmt zur Zeit des Larvenlebens, in welchem noch nicht Hautdrüsen aufgetreten sind, die einfach flächenhaft ausgebreitete Oberhaut die Ausscheidung der Byssusfäden. Später nach der Einsenkung der Oberhaut zu Hautdrüsen geht von letzteren die Absonderung des klebrigen Saftes aus, ohne aber selbst noch fädige Teile zu entwickeln.“ Auch ist eine solche Annahme der Beziehung der Gebilde zur Sekretion auf Grund meiner Untersuchungen nicht mehr aufrecht zu erhalten. Ich weiss wohl, dass, wie von mehreren Autoren in neuester Zeit zugegeben worden ist, die Mitochondrien bzw. Chondriokonten zur Sekretion der Zellen eine gewisse Beziehung haben; doch kommen in den basalen Epidermiszellen, welche die fraglichen Gebilde enthalten, niemals

Vorgänge vor, die als sekretorisch angesehen werden könnten. Vielmehr übernehmen andere Zellen die Sekretion, die in dem Larvenstadium vor dem Auftreten der eigentlichen Drüsen vollzogen werden muss; darüber werde ich in der nächsten Arbeit Genaueres berichten.

Endlich muss die Annahme Studnička's (28) über die Rolle, welche die intrazellulären Gebilde zu spielen haben, hier berücksichtigt werden. Er sagt: „Es handelt sich sicher um Tonofibrillen, doch diese können nur zur Festigung der einzelnen Basalzellen, nicht dagegen des Epidermisgewebes als eines Ganzen, dienen“ Ausserdem ist es ihm nicht begreiflich, wozu die so dünne Epidermis ein so festes Stützgerüst brauchen sollte. Die einzige Erklärung, die ihm annehmbar erscheint, ist die, dass „sie in gewissem Sinne das Corium, welches gerade bei diesen Tieren im larvalen Zustande minimal dick ist, auf irgend welche Weise in seiner Funktion stärken“. Ich habe früher dargetan, dass die Stränge, wie die Entwicklungsgeschichte derselben zeigt, von den geknickten Chondriokonten in den Epidermiszellen gebildet wurden und bis zu einer gewissen Larvenperiode niemals ihre färberische Reaktion für die Mitochondrienmethode geändert haben. Da die Mitochondrien bzw. Chondriokonten mit den Tonofibrillen keine identischen Gebilde sind, so ist der erste Teil seines Aufsatzes hinfällig. Was den zweiten Teil seiner Beschreibung anbetrifft, so hat er gewisse Berechtigung insofern, als die intrazellulären Gebilde festere Beschaffenheit haben und daher als Gerüst für die basalen Epidermiszellen dienen können. Da jedoch diese Gebilde nur verklebte Chondriokonten darstellen, so ist ihre Befestigung nur von transitorischer Art, wie ich früher gezeigt habe.

Bekanntlich verschwinden die intrazellulären Gebilde am Ende des larvalen Lebens gänzlich. Wie sie sich bei dem Verschwinden verhalten, ist bis dato wenig beachtet worden.

Pfitzner (20) sagt nur, dass sie mit der Häutung des Tieres verschwinden müssen, weil sie ohne die Zelle nicht fortexistieren können. Auch Eberth (3) spricht sich in demselben Sinn wie Pfitzner aus.

Nach Studnička (28) ist es nicht anders möglich, als dass die intrazellulären Gebilde „in das am Ende der Larvalzeit entstehende Exoplasma der Zelle aufgenommen werden, wo sie infolge teil-

weiser Maskierung weniger deutlich sind als früher in seinem Endoplasma. Ein Teil von ihnen löst sich jedenfalls auf und es entstehen neue Fibrillen in der gewöhnlichen Anordnung an der Stelle der alten Fibrillenbündel. Diese Vermutung Studničkas möchte ich für berechtigt halten. Zwar löst sich ein Teil der mitochondrialen Stränge auf, nachdem sie ihre färberische Reaktion geändert haben. Die übrig gebliebenen, chemisch veränderten Fäden dagegen werden wahrscheinlich, wie Studnička auch annimmt, ins Exoplasma aufgenommen, wo sie als Tonofibrillen weiter existieren können. Besondere Beachtung verdienen die Fäden in den basalen Zellen, weil sie, wie später geschildert werden wird, mit der Cutis sich verbinden und als „Haftfasern“ Kromayers zu der Befestigung der basalen Zellen, ja sogar der ganzen Epidermis dienen.

4. Über die Frage der Epidermis-Cutisgrenze.

A. Eigene Beobachtungen.

Wie früher gezeigt wurde, ist die Epidermis schon an 9 mm langen Larven (Fig. 1—3) durch eine sehr dünne homogene Schicht, die sog. Basalmembran, unten scharf begrenzt. An der Unterflache dieser Membran liegen flache, grosse, oft mit Dotterkügelchen besetzte Bindegewebszellen, die in Flächenansicht durch reichliche Fortsätze sich auszeichnen. Die basalen Epidermiszellen sitzen mit der flachen Basis an dieser Membran fest. Wie schon bemerkt wurde, enthalten sie ausser den um den Kern aufsteigenden Chondriokonten noch horizontal verlaufende, die zwischen dem Kern und der Basalmembran gelegen sind, wie Fig. 1—4 es zeigen. Dass diese horizontal gestellten Chondriokonten oft in der vertikalen Richtung sich umbiegen, wurde schon früher geschildert.

An den 1.4 cm langen Larven (Fig. 20) hat die Dicke der Basalmembran bedeutend zugenommen, so dass sie etwa ein Drittel der Höhe der basalen Zellen beträgt. Sie ist jetzt nicht mehr homogen, sondern es sind in ihr zwei Schichten zu unterscheiden. Die untere Schicht färbt sich mit Eisenhämatoxylin blasser und zeigt deutlich sichtbare, doch sehr feine Fibrillen, die zueinander parallel verlaufen. Auf dieser Schicht zeigt die Basalmembran — es wäre besser, sie Cutisanlage zu nennen — eine in demselben Präparat dunkler sich färbende Schicht, die durch das dichte Zusammenlaufen der sie zusammensetzenden Fibrillen homogen

erscheint. Unter der aus zwei Schichten bestehenden Cutisanlage liegen flache Bindegewebszellen, wie es früher der Fall war.

Dass in den basalen Epidermiszellen, die mit der ebenen Basis auf der Cutisanlage sitzen, in dieser Larvenzeit drei Arten von Zellen zu unterscheiden sind, ist schon früher beschrieben worden.

In den Zellen der ersten Art (Fig. 20 I und 58), welche die Form der abgestumpften Pyramide zeigen, sieht man eine sehr dünne Schicht, die der Cutisanlage als Saum dicht anliegt. Der Saum besteht aus einer homogenen, stark lichtbrechenden Substanz; er bricht das Licht stärker als das unter ihm gelegene Bindegewebe der Cutis und färbt sich mit Eisenhämatoxylin dunkler, mit Säurefuchsin, Eosin etc. mehr rötlich als das Bindegewebe und das Zellplasma selbst. Er ist in diesem Stadium der Larven noch dünn; seine glatte untere Fläche ist von der Cutis ziemlich scharf begrenzt. Bei der Abtrennung der Zellen durch die Messerschneide trennen sich die Zellen meist an der unteren Fläche dieses Saumes von der Cutis ab, so dass sie an den Zellen haften bleibt. Auf der oberen Fläche des Saumes, welche ich kurzweg die homogene Basalschicht nennen will, sieht man an vertikalen Schnitten der Epidermis einige wellig verlaufende, mitochondriale Stränge (Fig. 58). An tangentialen Schnitten der Epidermis bemerkt man, dass die horizontal verlaufenden Stränge ein Netz bilden, dessen Maschen polygonal sind (Fig. 59 b I hs). In der Peripherie dieser Zellen (vergl. auch Fig. 58) verlaufen ganz dünne, vertikal gestellte, mitochondriale Stränge, die, nach unten den äussersten Rand der homogenen Basalschicht durchsetzend, die Cutis erreichen. Ausserdem sieht man an diesen Flächenschnitten (Fig. 59 a und b), wie früher gezeigt wurde, dass die mit der homogenen Basalschicht versehenen Zellen ihre Basalflächen so ausgebreitet haben, dass zwischen ihnen (I) nur minimale Lücken übrig bleiben, in denen das untere Ende der mitochondrialen Stränge von den Zellen der dritten Art an der Cutis haftet (Fig. 59 b III ts').

Die Zellen der zweiten Art (Fig. 27—35), die ihre Basis mehr und mehr verschmälern, haben nur eine dünne, oft fast unmerkliche homogene Basalschicht. Wenn man solche Zellen an Flächenschnitten betrachtet (Fig. 59 a und b II), so haben sie in der Zellperipherie dickere Bündel, die weniger zahlreich

sind als die der ersten Zellen. Verfolgt man solche vertikal gestellten sekundären Stränge gegen die Basis, so wird man sich bald davon überzeugen, dass sie nach innen sich umbiegen und in das oben beschriebene, auf der homogenen Basalschicht gelegene Netz von mitochondrialen Strängen übergehen (Fig. 59 b, II). Mit der Verschmälerung der Basis derartiger Zellen werden, wie früher geschildert wurde, die auf der homogenen Basalschicht gelegenen mitochondrialen Stränge mehr und mehr von ihrer Unterlage abgehoben und mit dem Vorschreiten solchen Prozesses zur Bildung der tertiären mitochondrialen Stränge verwandt.

Nach meiner Ansicht leiten sich die Zellen der ersten Art nicht von den Zellen der zweiten Art ab, ebensowenig in umgekehrter Weise. Vielmehr haben beide Zellen gemeinsame Ursprungszellen. Als solche muss man jene Zellen betrachten, die gestreckte Chondriokonten oder primäre Bündel in ihrem Beginn der Verklebung enthalten (Fig. 21—26). In solchen Zellen sieht man deutlich genug, dass sie in der basalen Fläche, wo sie die Cutis berührt, eine sehr dünne homogene Schicht berühren, die als der erste Anfang der späteren dickeren homogenen Basalschicht angesehen werden kann. Mit der Entwicklung gehen diese Zellen nach zwei Richtungen auseinander, indem einerseits sie sich zu den Zellen mit breiter Basis differenzieren, andererseits zu den Zellen, die von den ersteren immer mehr verdrängt werden. Während dieser Differenzierung nach den zwei Richtungen werden die primären und sekundären Strangbildungen sowohl in der vertikalen wie der horizontalen Richtung Schritt für Schritt vollzogen. In der horizontalen Richtung werden die Chondriokonten, die unter dem Kern horizontal verlaufen, nach und nach verklebt, und wird zuletzt jenes Flechtwerk, das man auf der Basalfläche der Zellen sieht, gebildet (Fig. 59 b Ihs); bei der Verklebung wird dieses Flechtwerk nicht selbständig gebildet, sondern stets im Zusammenhang mit den vertikal gestellten Strängen, so dass der ununterbrochene Übergang beider Stränge zustande kommt. An dem Flächenpräparate sieht man diesen Übergang deutlich an den Zellen, die ihre Basis zu verschmälern beginnen (Fig. 59 b II).

In den Zellen mit breiter Basis (Fig. 59 a und b I) kann man den direkten Übergang der vertikalen Stränge zu den horizontalen nicht sehen, ebensowenig lässt sich in diesem Stadium die Beziehung zwischen beiden Strängen mit Sicherheit entscheiden.

An den 2 cm langen Larven (Fig. 70) nimmt die Cutis noch mehr an Dicke zu. Sie zeigt in ihrer ganzen Dicke feine fibrilläre Streifung; von dem im vorigen Stadium sichtbar gewesenem oberen dichteren, dunkler färbbaren Teil derselben ist nichts zu bemerken. Die Zellen der ersten Art (Fig. 70 I, I' und 78), die wie früher pyramidenförmige Gestalt zeigen und jetzt deutliche mitochondriale Stränge erkennen lassen, sitzen auf jener homogenen Basalschicht auf, die jetzt dicker geworden ist als früher. Die untere glatte Fläche der homogenen Basalschicht wölbt sich oft gegen die Cutis vor, während ihre obere unebene Fläche deutlich sichtbare mitochondriale Stränge trägt. Das auf der homogenen Basalschicht gelegene Netz hat jetzt eine gewisse Umordnung erfahren, so dass es nach der Form der Zellbasis verschiedenartig orientiert ist (Fig. 80 und 81). Wenn die Basis längliche Form aufweist, so verlaufen die Stränge hauptsächlich der Länge nach (Fig. 81). Hat dagegen die Zellbasis dreieckige Form, so orientieren sie sich in den drei Richtungen, die mit den Seiten des Dreiecks parallel gestellt sind (Fig. 80). Auch ist in diesem Stadium deutlich zu sehen, dass die Enden der horizontal gestellten Stränge gegen die Peripherie der Basis in Fibrillen zerfallen. Diese letzteren vereinigen sich mit den ebenfalls auseinander weichenden unteren Enden der vertikal gestellten Stränge in dem oberen Rand der homogenen Basalschicht, um dann zusammen die letztere durchsetzend, die Cutis zu erreichen (Fig. 80 und 81).

Um die Entstehung dieser bemerkenswerten Anordnung der Fibrillen zu verstehen, müssen wir zu dem vorigen Stadium (1.4 cm lange Larven) zurückkehren. Wie schon gezeigt wurde, ist in den noch nicht ihre Basis verbreiternden Zellen der Über-

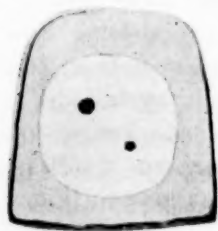


Fig. 3.

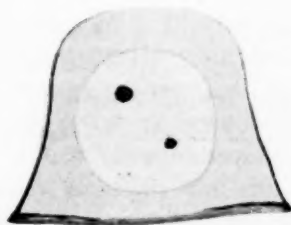


Fig. 4.

gang der vertikalen Chondriokonten zu den horizontalen direkt zu beobachten (vergleiche auch Textfig. 3). Wenn nun die Zell-

basis sich zu verbreitern beginnt, so müssen die Stränge an dem äussersten Rande der Basis eine Knickung erfahren, so dass jetzt die spitzwinklige Umbiegung zustande kommt, wie es die schematische Textfig. 4 veranschaulicht. Mit dem Vorschreiten der Verbreiterung der Zellbasis nähern sich beide Teile der umgebogenen Stränge immer mehr, um zuletzt miteinander zu verkleben (Textfig. 5), so dass jetzt die Bilder, die Fig. 80 und 81 zeigen, verständlich werden.

An den 4,5 cm langen Larven (Fig. 85) ist die Cutis, die von unten mit den Bindegewebszellen besetzt ist, noch dicker geworden als früher. Die dicke, meist gegen die Cutis sich stark vorwölbende homogene Basalschicht, sowie die auf ihr gelegenen horizontal gestellten Stränge (Fig. 93) haben jetzt den Höhepunkt ihrer Entwicklung erreicht. Ebensogut ist zu sehen, dass die unteren Enden der vertikalen Stränge in einzelne Fibrillen zerfallen und die homogene Basalschicht durchsetzen (Fig. 85 I. P').

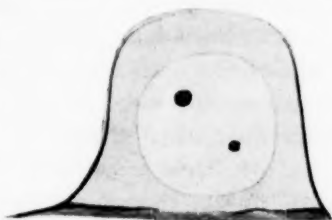


Fig. 5.

Auf Fig. 94, die von den in ihrer Entwicklung noch weiter vorgeschrittenen Larven entstammt, ist die homogene Basalschicht, die hier mit Säurefuchsin rot gefärbt ist, wohl zu sehen, doch von den auf ihr gelegenen Strängen bemerkt man nichts mehr.

In dem nächsten Stadium (Fig. 95) ist die Basalschicht un-
deutlich geworden; sie sieht wie der vereinigte Saum der unteren verbreiterten Enden der vertikal gestellten Stränge aus, die jetzt ihre färberische Reaktion verändert haben.

In dem folgenden Stadium verschwindet die Basalschicht vollständig (Fig. 96 und 97); doch ist zu bemerken, dass das untere Ende der vertikalen Stränge, die mit der Kromayer'schen Methode gut färbbar sind, mit den auseinander weichenden Fibrillen an der Cutis haften, wovon schon früher die Rede war (Fig. 97). Die Bindegewebszellen dringen zum erstenmal in das Korium ein (Fig. 96).

Was bedeutet nun die homogene Basalschicht mit den daraufgelegenen Strängen? Um diese Frage zu beantworten, muss man zunächst bedenken, woraus die Basalschicht entsteht. Nach meiner

Ansicht ist sie sicher ein Produkt der basalen Epidermiszellen. Dass sie den letzteren angehört, ist schon dadurch zu beweisen, dass sie bei der Zerreißung der basalen Zellen durch die Messerschneide meist an denselben haften bleibt, und auch dadurch, dass sie bei der Mitose in ihrer Mitte halbiert wird und in die Tochterzellen übergeht (Fig. 82 und 84). Die homogene Basalschicht ist schon früher in den Zellen, die gestreckte Chondriokonten aufweisen, vorhanden und nimmt immer mehr an Dicke zu, so dass sie an 4,5 cm langen Larven bedeutende Dicke erreicht. Mit dieser Zunahme der Dicke hält das Wachstum das daraufgelegenen, horizontal gestellten, mitochondrialen Stränge gleichen Schritt. Nach dem Verschwinden der letzteren bleibt die homogene Basalschicht noch bestehen, um dann gänzlich zu verschwinden. Also entsteht diese Schicht in einem Entwicklungsstadium, wo vielleicht die Strangbildung schon begonnen hat, und verschwindet, wenn die Stränge verschwinden. Es wäre nun nicht fernliegend anzunehmen, dass diese Schicht auf Kosten der horizontal gestellten mitochondrialen Stränge entstehe. Die Stränge verlieren ihre spezifische Reaktion für die Mitochondrienmethode und bilden sich zu der homogenen Basalschicht um, die mit Säurefuchsin, Eosin etc. gut färbbar ist.

Wozu wird dann weiter die homogene Basalschicht verbraucht? Es lassen sich zwei Annahmen über ihr Schicksal machen: zuerst kann man vermuten, dass sie sich auflöst und verschwindet. Mit dieser Vermutung muss gerechnet werden, so lange nicht die Umbildung der Basalschicht in andere Gebilde mit Sicherheit nachgewiesen ist. Die andere Möglichkeit ist die, dass die Basalschicht unten die Bindegewebsfibrillen abscheidet. Um diese letztere Annahme wahrscheinlich zu machen, führe ich folgende Punkte an:

1. Wie früher geschildert wurde, gehen die basalen Epidermiszellen in ihrer Beziehung zur Cutis nach den zwei ganz verschiedenen Richtungen auseinander. Die einen Zellen verbreitern ihre Basis und bilden die homogene Basalschicht mit den daraufliegenden Strängen. Die anderen Zellen werden von den oben genannten mehr und mehr nach oben gedrängt, so dass zuletzt ihre verschmälerte Basis nur durch den linienartigen Fuss mit der Cutis verbunden bleibt. Dieser Prozess geht in einem viel früheren Larvenstadium (schon vor dem Stadium der Larven von

1,4 cm Länge) ziemlich schnell vor sich, so dass Übergangsformen nicht häufig zu beobachten sind. Wenn man Flächenschnitte anfertigt, so sieht man leicht, dass die Zellen an dem Rand der verbreiterten Basis sich fast miteinander berühren; nur bleiben dazwischen minimale Spalten übrig, die für die anderen verdrängten Zellen als Anheftungsstelle an der Cutis dienen (Fig. 59 b, III ts'). Aus diesem Umstand kann man mit Wahrscheinlichkeit schliessen, dass die mit der homogenen Basalschicht versehenen Zellen eine gewisse Beziehung zur Cutis haben.

2. Das untere Ende der mitochondrialen Stränge, welche die keulenförmigen Zellen mit der nach unten zugekehrten Spitze in sich einschliessen, ist, wie schon erwähnt wurde, ziemlich fest mit der Cutis verbunden, so dass bei einem Abreissen der Zellen durch den Schnitt die Stränge oft aus den Zellen herausgezogen werden und der Cutis anhaften bleiben. Wie kann man diese feste Verbindung der Stränge mit der Cutis deuten? Ich habe oben geschildert, dass die in Verschmälerung der Basis begriffenen Zellen eine dünne homogene Basalschicht und daraufliegende mitochondriale Stränge aufweisen. Mit dem Fortschreiten der Verschmälerung werden einerseits die Stränge von der Unterlage abgehoben und andererseits wird die homogene Basalschicht in die Cutis aufgenommen. Da die homogene Basalschicht auf Kosten der horizontal gestellten Stränge gebildet wird und die letzteren ihrerseits mit den vertikal gestellten in ununterbrochener Verbindung stehen, so muss zwischen den letzteren und der Basalschicht eine direkte Verbindung der Substanz vorhanden sein. Diese Verbindung bleibt selbst in dem Falle, wo die homogene Basalschicht sich in die Cutis umgewandelt hat, noch bestehen, so dass die mitochondrialen Stränge, bzw. ihre Fibrillen ins Bindegewebe der Cutis sich direkt fortsetzen.

Diese Annahme gilt für die Zellen mit breiter Basis. Den peripheren Teil der homogenen Basalschicht dieser Zellen durchsetzen die unteren Enden der vertikal gestellten Stränge. Bei der Umwandlung der homogenen Basalschicht in Bindegewebe werden die unteren Enden der vertikal gestellten Stränge ebenfalls in die Cutis mit aufgenommen.

Wenn nun, wie ich früher geschildert habe, ein Teil der Tonofibrillen von den vertikal gestellten, mitochondrialen Strängen sich ableiten lässt, so gewinnt die Verbindung derselben mit der

Cutis an Bedeutung. Diese Verbindungsfibrillen dienen als „Haftfasern“ Kromayers, um die Basalzellen mit der Cutis zu verbinden und weiter die ganze Epidermis vor der Ablösung zu schützen. Die von vielen Seiten oft behandelten, doch in ihrer Bedeutung noch nicht endgültig aufgeklärten sogenannten Herxheimerschen Spiralen sind wahrscheinlich Fasern, durch welche die nach oben verschobenen Zellen ihre Verbindung mit der Cutis bewahren (siehe Fig. 97 II)

3. In einem gewissen Larvenstadium (Fig. 70) lassen sich in der Cutisanlage zwei in ihrem Aussehen verschiedene Schichten unterscheiden. Die untere Schicht färbt sich blasser und zeigt einen deutlich fibrillären Bau, während die obere, an die Epidermis angrenzende Schicht eine dichtere, mehr homogene Beschaffenheit hat, so dass sie durch Farbstoffe dunkler gefärbt ist. Es liegt der Gedanke nahe, dass, wie auch Maurer (15) gezeigt hat, die obere mehr homogene Schicht eine jüngere Entwicklungsstufe darstellt als die untere fibrilläre. Diese Verschiedenheit in der Struktur wäre erst erklärlich, wenn man annimmt, dass die larvale Cutis, wenigstens ein Teil derselben, von den basalen Epidermiszellen gebildet wird.

4. Die larvale Cutis hat zuerst keine Zellen, erst in einer ziemlich vorgeschrittenen Larvenzeit (Fig. 96) schieben die unter der Cutis gelegenen Bindegewebszellen ihre Fortsätze in sie hinein, bis dann die Zellen selbst nachfolgen, wie auch Schuberg (25, 26) annimmt. Wie kann man sich diese sekundäre Einwanderung der Zellen, die wahrscheinlich für die Ernährung der Bindegewebsfibrillen bestimmt ist, erklären? Wenn die ganze larvale Cutis nur von seiten der Bindegewebszellen gebildet wird, so würde eine bestimmte Anzahl von Zellen, die ihrerseits Bindegewebsfibrillen produziert haben, von Anfang an in der Cutis übrig bleiben, um die gebildeten Fibrillen zu ernähren, ohne dass eine sekundäre Einwanderung erforderlich wäre. Doch ist dies nicht der Fall. Die Einwanderung der Zellen wäre somit für die Ernährung von solchen Teilen der Cutis nötig, die von den basalen Epidermiszellen gebildet wurden. Fast gleichzeitig mit dieser Einwanderung der Bindegewebszellen hört dann, wie ich annehme, die Produktion der Bindegewebsfibrillen von seiten der Epidermiszellen auf und wird dann die Zunahme der Cutis nur durch die Bindegewebszellen herbeigeführt.

B. Literatur und kritische Bemerkungen.

Die jetzt vorherrschende Ansicht über die Entwicklung der Cutis ist, dass sie nur von den Bindegewebszellen gebildet wird. So nehmen für die Amphibienlarven Remak (21), Goette (7), Török (29), Rabl, Schuberg (27) u. a. an.

Maurer (15) hat in seiner Monographie die Entwicklungsgeschichte der Cutis von *Rana temporaria* berührt. An den Larven, an denen die inneren Kiemen sich ausgebildet haben, lagern sich grosse, flach ausgebreitete Bindegewebszellen mit verästelten Fortsätzen der Basalfläche der Epidermis an; unter der letzteren ist noch keine Spur einer Stützlamelle nachzuweisen. Erst an den Larven, an denen eben die hinteren Extremitäten als kleine Höckerchen äusserlich sichtbar sind, tritt eine feine, aber deutlich konturierte Lamelle auf, die sich der Basalfläche des Ektoderms dicht anschliesst und unten von den Bindegewebszellen besetzt ist. In diesem Stadium sind nach Maurer in den basalen Epidermiszellen zwei Arten von Zellen zu unterscheiden: die meisten Zellen stellen grosse, kubische, mit körnigem Plasma versehene Gebilde dar, die mit ihrer breiten Basis auf dem Korium glatt aufsitzen. Zwischen diesen Zellen kommen zerstreut mit ihrer Spitze gegen das Korium zugekehrte, birnenförmige, glashell erscheinende, die eigentümlichen Spiralfäden in sich einschliessende Zellen vor, die mit den von ihrer Spitze nach unten ausgehenden Plasmafäden das Korium durchsetzen. „Diese Zellen“, sagt er, „sind insofern schon an der Bildung der ersten Koriumlamelle beteiligt, als sie in diese hinein feinste Fortsätze entsenden, die sich wie Interzellularstrukturen verhalten.“ Er ist ausserdem der Meinung, dass die Lederhaut nicht ganz gleichmässig, sondern unter der Epidermis homogen und dunkler gefärbt ist, während die tieferen Schichten blasser gefärbt und fibrillär umgewandelt sind, so dass die tieferen Lagen offenbar die älteren, die oberflächlichen die zuletzt gebildeten Teile des Koriums sind. „Dies weist darauf hin“, schreibt er dann, „dass an der Basis der Epidermis eine fortwährende Neubildung von Koriumsubstanz stattfindet, die, wenn man sie von Zellen ableitet, was wohl das einzig Verständliche ist, nur von den basalen Epidermiszellen gebildet sein kann.“

Diese Angabe Maurers stimmt im grossen und ganzen mit der meinigen überein, die ich von 1,4 cm langen Larven gemacht habe. Maurer hat richtig bemerkt, dass in der basalen Epidermisreihe zwei Arten von Zellen zu unterscheiden sind, und dass die birnenförmigen Zellen Spiralfäden enthalten, die offenbar meinen mitochondrialen Strängen entsprechen. Als Beweis der Beteiligung der Epidermiszellen an der Coriumbildung gibt er nur an, dass die oben beschriebenen birnenförmigen Zellen die Plasmafäden in das Corium senden. Dieses Verhalten konnte ich, wie schon gezeigt wurde, in meinen Präparaten nicht finden, wenn auch die Verbindung der unteren Enden der mitochondrialen

Stränge mit dem Bindegewebe annehmbar ist. Von der homogenen Basalschicht, die bei der Cutisbildung eine grosse Rolle spielt, erwähnt er nichts. Was die obere, homogen erscheinende Schicht der Cutisanlage anbetrifft, so stimmt meine Annahme mit der seinigen darin ganz überein, dass sie als zuletzt gebildeter Teil der Cutis aufzufassen sei.

An zwei Monate alten menschlichen Embryonen beschreibt Kolliker (9) ein zartes, strukturloses, zwischen Epidermis und Cutis gelegenes Häutchen, das leicht Falten bildet, nicht elastisch ist und ganz an die Linsenkapsel erinnert. Ob dieses Häutchen zur Cutis oder zur Epidermis gehört, konnte er nicht entscheiden. Er sagt: „Ich für mich rechne es genetisch zur letzteren, obschon es fast sicher ist, dass dasselbe später mehr mit dem Corium verschmilzt; ich betrachte es als eine Art Ausscheidungsprodukt der Oberhautzellen . . .“

Nach Retterer (22) entsteht und erneuert sich die ganze Haut von den Zellen der unteren Reihe des Rete Malpighi. Sie vermehren sich und geben das Zellmaterial sowohl nach oben für die Epidermis, um die durch Abschuppung verloren gehenden Zellen zu ersetzen, wie nach unten, um zu den Bindegewebszellen sich umzuwandeln. Auch hält er, wie Kolliker, die Basalmembran für das Produkt, das zwischen der Epidermis und der Cutis von der ersteren gebildet wird.

Krauss (10) hat sich eingehend mit dem Zusammenhang zwischen der Epidermis und dem Corium bei Reptilien beschäftigt und auch dabei die Entwicklung des Corium berücksichtigt. Nach seiner Beschreibung drängen sich die stark vermehrten basalen Epidermiszellen gegen die Lederhaut vor. Dadurch entsteht dort die netzförmige Protoplasmanasse, die zwischen der Epidermis und dem Corium gelegen, allmählich ohne scharfe Grenze in letzteres übergeht; in dieser Protoplasmanasse differenziert sich das dichtere Bindegewebe. Nach Krauss ist daher die Verzahnung der Cutis mit der Epidermis als partielle, im Zusammenhang mit dem Bindegewebe der Cutis stehende Collagenbildung in dem basalen Protoplasmagebiet der Epidermiszellen aufzufassen. Auch stehen die Epithelfasern mit subepithelial gelegenen Bindegewebsfasern in innigem Zusammenhang.

Das Vordringen der basalen Epidermiszellen in die Cutis, wie es Retterer und Krauss behaupten, kommt bei den Anurenlarven, soviel ich habe wahrnehmen können, nicht vor. Bis zu einer gewissen Entwicklungsstufe der Larven grenzen die basalen Zellen mit flacher Basis gegen die Cutisanlage stets scharf ab, wie es auch Schuberg, Studnička u. a. angeben. Die Verbindung zwischen den basalen Epidermis- und den Cutiszellen wird, wie auch Schuberg (25, 26) annimmt, erst sekundär gebildet, und da liegt kein Grund vor, anzunehmen, dass dieser Zusammenhang, wie Maurer behauptet, auf die genetische Be-

ziehung zwischen beiden Zellarten hindeute und dass die Koriumzellen aus dem Epidermisverband ausgetretene Epithelzellen darstellen.

Dessenungeachtet stimmt meine Annahme mit den Beschreibungen Retterers und Krauss, darin überein, dass die basalen Epidermiszellen an der Cutisbildung teilnehmen. Doch gehe ich nicht soweit, dass die ganze Cutis von den Epidermiszellen gebildet werde. Die Beteiligung der Epidermis an der Cutisbildung würde nur dafür nötig sein, dass die Epidermiszellen mit der Cutis in fester Verbindung stehen müssen und nichts weiter. Das Vorkommen der Verbindung der Epidermiszellen mit der Cutis durch Protoplasmafasern beim erwachsenen Tiere, von dem auch Kromayer (11) spricht, wird erst verständlich, wenn man die Entwicklungsgeschichte des Grenzgebietes zwischen beiden Geweben untersucht. Wie oben geschildert wurde, kommen in den basalen Epidermiszellen vertikal und horizontal gestellte mitochondriale Stränge vor, welche beide miteinander verbunden sind. Die horizontal gestellten bilden sich zur homogenen Basalschicht und weiter zur oberflächlichsten Schicht der Cutis um, während die vertikalen, wenigstens ein Teil derselben, sich in Tonofibrillen differenzieren.

V. Zusammenfassung.

1. Die Chondriosomen der Epidermiszellen der Batrachierlarven stellen vor dem Erscheinen der sogenannten Eberthschen intrazellulären Gebilde meist Fäden, die Chondriokonten von Meves dar, die, obwohl sie in sehr verwickelter Weise geknickt sind, doch ihrer Hauptrichtung nach vertikal gestellt sind. Die Körnchen, Mitochondrien und die Körnchenreihen, Chondriomiten, kommen nicht häufig vor. Was in den meisten Fällen wie Körnchen aussieht, sind bei näherem Zusehen Chondriokonten, durch die wegen ihrer verwickelten Knickung Körnchenreihen nur vorgetäuscht werden.

2. Bis zu einer gewissen Entwicklungsstufe der Larven stellen die Mitochondrien bzw. Chondriokonten nur ein einziges Morphoplasma der embryonalen und larvalen Epidermiszellen dar, das nichts anderes als die Filarmasse Flemmings sein kann.

3. In einer gewissen Larvenzeit strecken sich die geknickten Chondriokonten der basalen Epidermiszellen und orien-

tieren sich nach der vertikalen und horizontalen Richtung. Diese Prozesse werden wahrscheinlich dadurch verursacht, dass die Epidermiszellen, die noch keine Tonofibrillen zu differenzieren vermögen, sehr frühzeitig gewissen Zug- und Druckverhältnissen ausgesetzt werden.

4. Fast gleichzeitig mit dieser Streckung der Chondriokonten setzen Verklebungen derselben ein, so dass dadurch zuerst aus einigen Chondriokonten bestehende, vertikal gestellte Bündel, primäre mitochondriale Stränge, die in die in derselben Weise gebildeten, auf der Zellbasis gelegenen, horizontal verlaufenden Stränge ununterbrochen übergehen. Diese primären Stränge verkleben weiter miteinander zu noch dickeren Bündeln, zu sekundären mitochondrialen Strängen, die oben bogenförmig ineinander übergehen, während die untere Fortsetzung zu den horizontalen Strängen noch deutlicher wird.

5. Von den 1,4 cm langen Larven an lassen sich in der basalen Epidermisreihe zwei Arten von Zellen unterscheiden. Die einen Zellen werden an ihrer Basis von den anderen benachbarten Zellen, die ihre Basis mehr und mehr verbreitern, in die Höhe gedrängt, so dass die ersteren nur mit einer zugeschärften Kante, die entweder geradlinig oder drei-, vier- oder fünfstrahlig ist, der Cutis anhaften bleiben. Mit dieser Formänderung der Zellen erleiden die mitochondrialen Stränge eine gewisse Umordnung. In den pyramidenförmigen Zellen mit nach oben zugekehrter Spitze sind die vertikal verlaufenden mitochondrialen Stränge ausschliesslich in der Zellperipherie gelegen, so dass sie hier ein rippenartiges Gerüst bilden. Die oberen Enden der Stränge verbinden sich über dem Kern miteinander, während die unteren Enden den peripheren Teil der homogenen Basalschicht durchsetzend die Cutis erreichen. Die mitochondrialen Stränge der anderen Zellen weichen mit der Verschmälerung der Basis meist nach den beiden Seiten des Kernes auseinander, wo sie zu mehr oder weniger dickeren Bündeln verklebt werden. Eine andere Folge der Verschmälerung der Basis besteht darin, dass die auf der Zellbasis gelegenen, horizontal verlaufenden Stränge mehr und mehr von ihrer Unterlage abgehoben werden, und dass diese freigewordenen Stränge mit den anderen wieder sich verkleben, so dass dadurch häufig ein den Kern umkreisender Ring gebildet wird. Diese beiden Verklebungen zusammen möchte ich tertiäre

Verklebung nennen. Ausser dieser gewöhnlichen Form der Verklebung kommen noch andere sehr verwickelte vor. Jetzt ist es zu dem Stadium gekommen, wo mehrere Autoren ihre sogenannten Eberth'schen intrazellulären Gebilde, die nichts anderes als die mitochondrialen Stränge selbst sein können, gefunden haben.

6. Bei der Zellteilung erfahren weder Chondriokonten noch mitochondriale Stränge eine bestimmte Anordnung. Die Verlagerung, die sie dabei erleiden, ist nur passiv.

7. Die mitochondrialen Stränge verlieren in der späteren Larvenperiode mehr und mehr ihre färberische Reaktion gegen die Mitochondrienmethode; doch lassen sie sich mit Eosin, Säurefuchsin etc. oder noch besser mit der Kromayerschen Methode gut färben. Die in ihren chemischen Eigenschaften veränderten Gebilde, die noch anfangs dieselbe Form und Anordnung zeigen, wie die mitochondrialen Stränge selbst, werden immer dünner. Es ist wahrscheinlich, dass ein Teil derselben in den Zellen aufgelöst wird, während ein anderer in dem inzwischen entstehenden Exoplasma aufgenommen wird und als Tonofibrillen weiter existieren kann.

8. Mit dem Schmälerwerden der mit der Kromayerschen Methode deutlich färbbaren Stränge nehmen die in den Zellen gelegenen, geknickten Chondriokonten immer mehr an Zahl zu und häufen sich um den Kern in ungeheurer Masse an, als ob sie auf Kosten der aufgelösten Stränge gebildet würden.

9. Fast gleichzeitig mit der Streckung der Chondriokonten erscheint in der Basis der Zellen eine dünne homogene Basalschicht, die zwischen den horizontal gestellten Strängen und der Cutisanlage, doch im Bereiche der Epidermiszellen gelegen ist. Diese homogene Basalschicht ist im weiteren Entwicklungsstadium nur auf die pyramidenförmigen Zellen beschränkt und nimmt an Dicke um so mehr zu, als die darauf gelegenen horizontalen mitochondrialen Stränge dicker werden. Die genannte Schicht verschwindet, nachdem die darauf gelegenen Stränge sich schon lange unseren Augen entzogen haben. Es ist wahrscheinlich, dass die horizontal gestellten Stränge zur homogenen Basalschicht sich umbilden und dass die letztere ihrerseits sich weiter zum Bindegewebe der Cutis differenziert. Da die horizontal gelegenen Stränge in die vertikal verlaufenden

ununterbrochen übergehen, und die letzteren, wenigstens teilweise, in weiterer Entwicklung zu Tonofibrillen sich umwandeln, so lässt sich annehmen, dass beim erwachsenen Tier die Tonofibrillen mit dem Bindegewebe der Lederhaut in unmittelbarer Verbindung stehen.

Herrn Prof. Dr. Jiro Kaneko, meinem hochverehrten Chef und Lehrer, spreche ich für sein beständiges, liebenswürdiges Interesse an dieser Arbeit meinen verbindlichsten Dank aus. Ebenso danke ich Herrn Prof. Dr. B. Adachi (Kyoto), Herrn Dr. K. Okajima (Kyoto) und Herrn T. Nakano (Kanazawa) für ihre freundliche Unterstützung.

Literaturverzeichnis.

1. Canini, A.: Die Endigungen der Nerven in der Haut des Froschlarvenschwanzes. Mit ergänzenden Bemerkungen von J. Gaulé. Arch. f. Anat. u. Phys., Phys. Abt., Jahrg. 1883.
2. Cohn, J.: Über Interzellularbrücken und Kittsubstanz. Anat. Hefte, Bd. 5, 1895.
3. Eberth, C. J.: Zur Entwicklung der Gewebe im Schwanz der Froschlarven. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 2, 1866.
4. Eberth, C. J. und Müller, K.: Untersuchungen über das Pankreas. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 53, Supplementband, 1892.
5. Frenkel, S.: Nerv und Epithel am Froschlarvenschwanz. Arch. f. Anat. u. Phys., Phys. Abt., Jahrg. 1886.
6. Gaupp, E.: Eckers und Wiedersheims Anatomie des Frosches. 2. Aufl., Braunschweig 1904.
7. Goette, A.: Entwicklungsgeschichte der Unke. Leipzig 1895.
8. Kölliker, A.: Histologische Studien an Batrachierlarven. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 43, 1886.
9. Derselbe: Entwicklungsgeschichte des Menschen. 2. Aufl., Leipzig 1879.
10. Krauss, F.: Der Zusammenhang zwischen Epidermis und Cutis bei Sauriern und Krokodilen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 67, 1906.
11. Kromayer, F.: Die Parenchymhaut und ihre Erkrankungen. Arch. f. Entw.-Mech. der Organismen. Herausgeg. von W. Roux, 1898.
12. Leydig, F.: Neue Beiträge zur anatomischen Kenntnis der Hautdecke und Hautsinnesorgane der Fische. Sonderabdruck aus der Festschrift d. Naturf. Ges. zu Halle, 1879.
13. Loewenthal, N.: Zur Kenntnis einiger Fadenstrukturen in den Epidermiszellen von Froschlarven. Anat. Anz., Bd. 38, 1911.

14. Macallum, B. A.: The Nerve Terminations in the Cutaneous Epithelium of the Tadpole. *Quarterly Journal of microsc. Science*, Vol. XXVII, New Serie, 1886.
15. Maurer, F.: Die Epidermis und ihre Abkömmlinge. Leipzig 1895.
16. Meves, F.: Die Chondriokonten in ihrem Verhältnis zur Filarmasse Flemmings. *Anat. Anz.*, Bd. 31, 1907.
17. Derselbe: Die Chondriokonten als Träger erblicher Anlagen. *Cytologische Studien am Hühnerembryo*. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. 73, 1908.
18. Mitrophanow, P.: Über die Endigungsweise der Nerven im Epithel der Kaulquappe. *Arch. f. Anat. u. Phys., Phys. Abt.*, Jahrg. 1884.
19. Nussbaum, M.: Über den Bau und die Tätigkeit der Drüsen. IV. Mitteilung. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. 21, 1882.
20. Pfitzner, W.: Nervenendigungen im Epithel. *Morph. Jahrb.*, Bd. 7, 1882.
21. Remak: Über die Entstehung des Bindegewebes und des Knorpels. *Müllers Arch.*, Jahrg. 1852.
22. Retterer, E.: Structure et évolution du tégument externe. *Journal de l'Anatomie et de la Physiologie*, XIème Année, 1904.
23. Samssonow, N.: Über die Beziehung der Filarmasse Flemmings zu den Fäden und Körnern Altmanns nach Beobachtungen an Knorpel-, Bindegewebs- und Epidermiszellen. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. 75, 1910.
24. Schneider, K. C.: *Lehrbuch der vergleichenden Histologie der Tiere*. Jena 1902.
25. Schuberg, A.: Untersuchungen über Zellverbindungen. I. Teil. *Zeitschrift f. wiss. Zool.*, Bd. 74, 1903.
26. Derselbe: Untersuchungen über Zellverbindungen. II. Teil. *Zeitschr. f. wiss. Zool.*, Bd. 87, 1907.
27. Derselbe: Beiträge zur vergleichenden Anatomie und zur Entwicklung der Lederhaut der Amphibien. *Zeitschr. f. wiss. Zool.*, Bd. 90, 1908.
28. Studnička, A. K.: Vergleichende Untersuchungen über die Epidermis der Vertebraten. *Anat. Hefte*, Bd. 39, 1909.
29. Török, A. v.: Über formative Differenzierungen in den Embryonalzellen von *Siredon pisciformis*. Ein Beitrag zur Histogenese des Tierorganismus. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. 13, 1877.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel VIII—XII.

Sämtliche Figuren sind mittelst Zeichenapparat von Zeiss in der Distanz von 25 cm vom Okular entworfen. Bei Fig. 1, 2, 20, 70, 85, 94—97 wurde Zeiss' Öl-Immers. $\frac{1}{12}$ mit Komp.-Okul. 12, bei allen übrigen Zeiss' Öl-Immers. $\frac{1}{12}$ mit Komp.-Okul. 18 verwendet. Wo keine besondere Angabe steht, liegen den Figuren mit Eisenhämatoxylin gefärbte Präparate von mit Mevesschem Gemisch fixierter Haut zugrunde.

Allgemein gültige Bezeichnungen:

- B = Der von der Unterlage abgehobene mitochondriale Strang, der an der Bildung des den Kern von unten umfassenden Bogens sich beteiligt.
 Bz = Bindegewebszelle.
 C = Cutis.
 Chp = Chromatophoren.
 Dk = Dotterkugeln.
 hb = Homogene Basalschicht.
 hs = Horizontal gestellte mitochondriale Stränge
 Pk = Pigmentkörnchen.
 vs = Vertikal gestellte mitochondriale Stränge.

Tafel VIII.

- Fig. 1 und 2. Schnitt der Haut einer 9 mm langen Rhacophoruslarve. Fig. 1: aus der Rückenhaut; Fig. 2: aus der Bauchhaut.
 Fig. 3. Schnitt der Rückenhaut einer 1,3 cm langen Ranalarve.
 Fig. 4. Basalzelle aus der Rückenhaut einer Rhacophoruslarve (9 mm Länge).
 Fig. 5 und 6. Basalzellen aus der Rückenhaut der Ranalarve (1,3 m Länge).
 Fig. 7 und 8. Oberflächliche Zellen aus der Rückenhaut der Rhacophoruslarve (9 mm Länge).
 Fig. 9—19. Verschiedene Stadien der Mitose. Fig. 9a: Basalzelle einer 1,3 cm langen Ranalarve, in der Ebene des Knäuels gezeichnet, 1: dieselbe Zelle bei der höheren Einstellung; Fig. 10—19: Zellen aus 9 mm langen Rhacophoruslarven; Fig. 10, 12—14, 16—19: Basalzellen; Fig. 10 und 15: oberflächliche Zellen.

Tafel IX.

- Fig. 20. Schnitt aus der Bauchhaut einer 1,4 cm langen Rhacophoruslarve. I: Zelle der ersten Art; II: Zelle der zweiten Art; III und III': Zellen der dritten Art; III: zur Längsachse der Zelle parallel; III': zu derselben quer geschnitten.
 Fig. 20—58. Basalzellen aus den 1,4 cm langen Rhacophoruslarven. Fig. 21 bis 23: Zellen mit gestreckten Chondriokonten; Fig. 24—26: Zellen mit primären mitochondrialen Strängen; Fig. 27—35: Zellen mit

sekundären mitochondrialen Strängen; Fig. 36–37: Zellen mit tertiären mitochondrialen Strängen; Fig. 36–55: von der breiteren Fläche der Zelle; Fig. 56 und 57: von der schmalen Seite derselben gesehen; Fig. 58: Zelle der ersten Art mit der dünnen homogenen Basalschicht.

Tafel X.

- Fig. 59. Tangentialschnitt der Epidermis einer 1,4 cm langen Rhacophoruslarve, gezeichnet in höherer (a) und tieferer Einstellung (b). I: Querschnitt von Zellen der ersten Art mit sekundären mitochondrialen Strängen in der Zellperipherie; II: Querschnitt von Zellen der zweiten Art mit sekundären mitochondrialen Strängen in der Zellperipherie; III: Querschnitt von Zellen der dritten Art mit tertiären mitochondrialen Strängen (ts) in der Zellmitte; III ts': drei-, vier- oder fünfstrahlige Anheftungslinie der tertiären Stränge an der Cutis.
- Fig. 60–69. Basalzellen mit mitochondrialen Strängen in den verschiedenen Stadien der Mitose. Aus 1,4 cm langen Rhacophoruslarven.
- Fig. 70. Schnitt aus der Bauchhaut einer 2 cm langen Rhacophoruslarve. I, I': Zellen der ersten Art, die entweder in der Oberfläche der Zelle (I) oder in der Ebene des Kernes (I') geschnitten sind; II, II': Zellen der zweiten Art, die entweder parallel (II) oder quer (II') zur Längsachse der Zelle geschnitten sind.
- Fig. 71–74. Basalzellen der zweiten Art mit tertiären mitochondrialen Strängen, von der breiten Fläche der Zellen gesehen. Aus der 2 cm langen Rhacophoruslarve.

Tafel XI

- Fig. 75–84. Basalzellen aus der 2 cm langen Rhacophoruslarve. Fig. 75–77: Zellen der zweiten Art, von der schmalen Seite der Zellen gesehen; Fig. 78: Zelle der ersten Art mit der homogenen Basalschicht, von der Oberfläche der Zelle gesehen; Fig. 79: Zwei Zellen der ersten Art, von oben gesehen, wo die oberen Enden der aufsteigenden Stränge miteinander verbunden sind; Fig. 80 und 81: Zellen der ersten Art, die quer geschnitten sind. Horizontal gestellte mitochondriale Stränge (hs) und untere Enden der vertikal gestellten (vs) gut zu sehen; Fig. 82–84: Zellen der ersten Art in der Mitose.
- Fig. 85. Schnitt aus der Bauchhaut einer 4,5 cm langen Rhacophoruslarve. I, I' und II, II': gleichbedeutend wie in Fig. 70.
- Fig. 86–91. Basalzellen der zweiten Art aus der 4,5 cm langen Rhacophoruslarve. Von der breiten Fläche (Fig. 86–90) und von der schmalen Seite der Zelle beobachtet (Fig. 91).
- Fig. 92. Zellen der ersten Art, von oben beobachtet. Netzbildung der oberen Enden der vertikal gestellten Stränge. Aus der 4,5 cm langen Rhacophoruslarve.
- Fig. 93. Zellen der ersten Art, die quer geschnitten sind. Horizontal gestellte mitochondriale Stränge (hs) und untere Enden der vertikal gestellten (vs) gut zu sehen. Aus der 4,5 cm langen Rhacophoruslarve.

Tafel XII.

- Fig. 94 und 95. Schnitt aus der Bauchhaut einer Rhacophoruslarve, an der die hinteren Extremitäten gut entwickelt sind. I: Zellen der ersten Art; II: Zellen der zweiten Art, die mehr und mehr ihren Stiel verschmälern (II'), bis sie zuletzt ganz von der Cutis sich abtrennen (II''). Eisenhämatoxylin mit Säurefuchsin-Nachfärbung.
- Fig. 96. Schnitt aus der Bauchhaut einer Rhacophoruslarve, an der die vorderen Extremitäten gut entwickelt, doch noch im Kiemensack verborgen sind. Eisenhämatoxylin.
- Fig. 97. Schnitt aus demselben Stück wie Fig. 96. I, I': Lang ausgezogene pyramidenförmige Basalzellen; II: Keulenförmige Zelle. Basalzellen haben dünne, mit der Kromayerschen Methode gut färbbare Fäden. In den Zellen der oberen Reihe kommen oft mit dem Ring versehene Zellen (III) vor.

Untersuchungen über Blut und Bindegewebe.

VI. Über Blutmastzellen.

Von

Dr. Alexander Maximow,

Professor der Histologie und Embryologie an der
Kaiserlichen Medizinischen Militär-Akademie zu St. Petersburg.

Hierzu Tafel XIII und XIV.

Ehrlich (3, 4) hat bekanntlich bei seinen farbenanalytischen Untersuchungen unter den gekörnten Leukozyten des Blutes von Anfang an eine besondere Zellart, die sogen. basophil gekörnten (γ) Zellen oder Mastzellen unterschieden. Er fand sie aber ausser im Blute auch im Bindegewebe. Dadurch zerfiel der Begriff der Mastzellen nach dem Ort ihres Vorkommens sofort in zwei besondere neue Begriffe — die bindegewebigen oder histiogenen Mastzellen und die hämatogenen Mastzellen, oder, wie sie heute genannt werden, die Mastleukozyten. Ehrlich selbst hat allerdings zwischen den beiden genannten Arten noch keine deutlichen Unterschiede angegeben. Mit der Zeit ist es jedoch in der Wissenschaft zu einer immer schärferen Scheidung der einen von der anderen gekommen.

Die Bindegewebsmastzellen stellen bekanntlich eine von den übrigen Elementen des Bindegewebes scharf absteckende, gut charakterisierte und selbständige Zellart vor; in ihrem Protoplasma enthalten sie Körnchen, welche sich mit basischen Anilinfarben metachromatisch färben. Bei den verschiedenen Tierarten verhalten sie sich, was Zahl, äussere Form, Körnchenreichtum usw. anbelangt, oft etwas abweichend; ihre Grundeigenschaften bleiben aber doch überall gleich und machen sie stets deutlich erkennbar.

Die Blutmastzellen, die Mastleukozyten, sollten nach Ehrlich eine besondere Art der Granulozyten vorstellen; ihr Protoplasma enthält auch basophile und metachromatische Körner, diese letzteren weichen aber in vielen Beziehungen von der Körnung der histiogenen Mastzellen ab. Ehrlich hat sich selbst über den Ursprung der Mastleukozyten nicht näher geäussert. Wenn sie aber wirklich richtige Granulozyten mit besonderer, spezifischer Körnung sind,

so müssen sie offenbar, ebenso wie die Spezialzellen und die eosinophilen Leukozyten, von besonderen spezifischen Jugendformen, entsprechenden Myelozyten abstammen. Und in der Tat sind solche Mastmyelozyten von vielen Autoren beobachtet worden und dieser Begriff hat sich in der Wissenschaft bis jetzt neben den Begriffen des spezialgekörnnten und des eosinophilgekörnnten Myelozyten zu behaupten gewusst. Auch die Mastmyelozyten gehören zum myeloiden Gewebe und werden normalerweise im Knochenmark beschrieben.

Die genetischen Beziehungen der Gewebsmastzellen und der Blutmastzellen zueinander und ebenso ihre embryonale Entwicklung wurden bis vor kurzem wenig beachtet. Von einzelnen Autoren wird sogar noch jetzt die scharfe Abgrenzung der beiden Zellarten selbst in vollständig differenziertem Zustande überhaupt geleugnet. Die meisten Autoren beschreiben sie aber, wie gesagt, als zwei unabhängige Zellarten.

Ich selbst habe in meinen neueren hämatologischen Arbeiten mehrere Male die Frage der Mastzellen behandelt. Zunächst habe ich (11) die Mastzellen des Bindegewebes bei verschiedenen Tieren ausführlich beschrieben und bewiesen, dass sie einerseits, entgegen den unzutreffenden Angaben von Schreiber und Neumann, scharf zu trennen sind von den Ranvierschen Klastozyten, meinen ruhenden Wanderzellen, andererseits aber auch, wenigstens im erwachsenen Organismus, streng unterschieden werden müssen von den im Blute als eine besondere granulierten Leukozytenart kreisenden Mastzellen, den Mastleukozyten. Diese histiogenen Mastzellen haben bei jeder Tierart ihre eigenen spezifischen Merkmale. Schwach entwickelt und spärlich beim Kaninchen, sehr zahlreich, gross und granulereich bei Ratte und Maus, stark verzweigt und mit langen fadenförmigen Ausläufern versehen bei den urodelen Amphibien (10), bieten sie auf den ersten Blick ein ziemlich buntes Bild dar, ihre charakteristische Grundeigenschaft bleibt aber dabei trotzdem immer dieselbe — das Protoplasma ist stets erfüllt von Körnchen, die sich mit basischen Farben in typischer Weise metachromatisch färben und dieses konstante Vorkommen solcher Granula im Zelleib ist die notwendige, aber auch genügende Bedingung für die Identifizierung einer Zelle des Bindegewebes als Mastzelle. Der Kern ist meistens relativ klein, einfach rund oder oval.

Die Mastleukozyten des Blutes habe ich (11) einer parallelen Untersuchung unterworfen und gefunden, dass sie bei den meisten Tieren, speziell bei den Säugern, im erwachsenen Organismus deutliche Unterschiede im Vergleich mit den Gewebsmastzellen darbieten. Sie stellen eine besondere Art der granulierten Leukozyten vor und besitzen dementsprechende Eigenschaften. Sie sind meistens viel kleiner als die Gewebsmastzellen, rund, beweglich, der Kern erscheint zerschnürt und polymorph. Der Zelleib enthält wohl auch basophil metachromatische Körner, diese letzteren sind aber mit den Körnern der Gewebsmastzellen nicht identisch, sondern unterscheiden sich von ihnen nach ihrer Grösse, Form, Wasserlöslichkeit, tinktoriellen Eigenschaften usw. Bei einigen Tieren, z. B. beim Kaninchen, kann man im Bindegewebe neben den Gewebsmastzellen sehr oft auch herumwandernde emigrierte Mastleukozyten antreffen und die beiden Zellarten dann an Ort und Stelle miteinander vergleichen.

Über die embryonale Entstehung der histiogenen und hämatogenen Mastzellen habe ich zuerst genauere Angaben gemacht (13). Die histiogenen entstehen im Mesenchym aus einem Teil der ubiquitären indifferenten histiogenen Wanderzellen durch allmähliche Ausarbeitung metachromatischer Granula im Zelleib. Weiterhin können sie sich schon im granularen Zustande selbständig durch Mitose vermehren. Meine histogenetischen Untersuchungen am Knochenmark gestatteten im speziellen einen Einblick in die Beziehungen zwischen den histiogenen und den hämatogenen Mastzellen (14). Bei einigen Tieren, z. B. dem Meerschweinchen, entstehen die beiden Arten sofort als ganz verschiedene Zellformen. Zuerst tauchten hier bei Embryonen bestimmter Grösse typische Gewebsmastzellen auf, durch Ausarbeitung von Körnern in den lymphozytoiden Wanderzellen überall im Bindegewebe. In späteren Stadien entstehen im Knochenmark, ebenfalls aus den lymphozytoiden Wanderzellen, ganz anders geartete basophil gekörnte Zellen — die Mastmyelozyten und Mastleukozyten. Bei anderen Tieren, z. B. beim Kaninchen, liegen die Verhältnisse insofern anders, als hier umgekehrt zuerst überall im Mesenchym Zellen vom Charakter der Mastmyelozyten entstehen, während typische Gewebsmastzellen erst viel später auftreten. Hier könnte man eventuell, wenigstens für den Embryo, an eine gemeinsame basophil-metachromatisch granuliert Vorstufe

der histiogenen und hämatogenen Mastzellen denken. Bei den niederen Wirbeltieren scheinen nach meinen Untersuchungen am Axolotl (10) noch viel innigere Beziehungen zwischen den beiden Mastzellenarten zu existieren. Wenigstens habe ich hier bei entzündlicher Neubildung von Bindegewebe im Granulationsgewebe deutliche Anzeichen einer Verwandlung emigrierter Mastleukozyten in fixe, gestreckte und verzweigte Gewebsmastzellen beobachten können.

Diese schärfere Abgrenzung des Begriffes der Mastzellen, vor allem ihre Scheidung von den Klasmatozyten oder ruhenden Wanderzellen und die Unterscheidung zwischen histiogenen und hämatogenen Mastzellen erscheint heutzutage in der Wissenschaft ziemlich allgemein anerkannt. So vertritt Weidenreich in seiner Spezialarbeit über die basophil gekörnten Zellen im Blut und Bindegewebe und in seinem gross angelegten Werke über die Leukozyten einen ganz ähnlichen Standpunkt (21, 22). Bei den erwachsenen Säugetieren hält er, ebenso wie ich, die histiogenen Mastzellen und die Blutmastzellen für zwei verschieden differenzierte Formen, da lediglich der gleiche Färbungscharakter ihrer sonst ungleichen Granula auch angesichts der anderen abweichenden Merkmale nicht rechtfertigt, die Zellen als morphologisch gleichartig zu betrachten (22, S. 169). Was jedoch die niederen Wirbeltiere anbetrifft, so kommt auch er zum Schluss, dass im Gegensatz zu den Säugern hier die Mastzellen des Blutes und des Bindegewebes gleichwertige Elemente sind, deren verschiedene Erscheinungsform durch die Änderung der Umgebung bedingt ist.

Schon früher hatten ferner auch Michaelis und Pappenheim ebenfalls die Unterschiede zwischen den histiogenen und hämatogenen Mastzellen betont. Nach einigen Äusserungen Pappenheims aus dem Jahre 1904 (16, S. 165, 405) sollten sogar insofern grundlegende Verschiedenheiten herrschen, als nur die histiogenen, sessilen und mobilen Mastzellen eine spezifische echte Körnung aufweisen, während die hämatogenen Mastzellen überhaupt keine echte Körnung besitzen, sondern nur chemisch verändertes Lymphozytenspongioplasma. Die Scheidung der beiden Mastzellenarten hält Pappenheim auch in einer Reihe von Publikationen neueren Datums aufrecht (16a). Doch scheint er jetzt seine weiter unten näher erörterte Anschauung über die degenerative Natur der Granula in den Mastleukozyten auch auf

die Körnung der histiogenen Mastzellen ausgedehnt zu haben (17, S. 456). Auch im bekannten Buch von Nägeli (15, S. 212) werden die beiden genannten Mastzellenarten scharf unterschieden.

Unter den neueren Autoren scheint mir Türk (20, Teil II, 1. H., S. 303) der einzige zu sein, der den Unterschied zwischen den Gewebs- und Blutmastzellen bei den Säugetieren und dem Menschen nicht anerkennen will. Beide sollen im wesentlichen die gleichen Zellen sein. In diesem Umstand, dass nämlich Zellen, die als ein Glied der Granulozytenreihe einen konstanten, wenn auch spärlichen Bestandteil des myeloiden Gewebes ausmachen, auch ausserhalb des letzteren überall im Bindegewebe vorkommen, erblickt Türk sogar einen besonderen Beweis dafür, dass das myeloide Gewebe nicht als scharf abgegrenztes Ganzes im Organismus angesehen werden darf.

Uns interessieren hier vor allem die hämatogenen Mastzellen, die Mastleukozyten. Ehrlich erblickte in ihnen, wie gesagt, eine besondere Art von echten Granulozyten, also spezifisch in einer bestimmten Richtung differenzierte Zellen und ihre Granula sollten ebenso wie die eosinophilen oder die Spezialgranula das Produkt einer aktiven sekretorischen Tätigkeit des Zellprotoplasmas sein. Auf Grund meiner eigenen früheren Untersuchungen (11, 13, 14), die mit Methoden ausgeführt wurden, welche den besonderen Eigenschaften der Mastzellenkörner Rechnung tragen, habe ich keinerlei Veranlassung gefunden, diese Grundthesen irgendwie zu verändern. Die allgemeinen Eigenschaften der im Blute kreisenden reifen Mastleukozyten, ihre Kernbeschaffenheit, der Charakter ihrer Granulation konnten durchaus denselben Eigenschaften der anderen beiden Granulozytenarten an die Seite gestellt werden; degenerative Erscheinungen habe ich an ihnen niemals bemerken können. Um ihre Entwicklungsgeschichte möglichst klarzustellen, habe ich auch ihren vermutlichen Ursprungsort, das Knochenmark, genau untersucht — es fanden sich hier auch in der Tat entsprechende Jugendformen mit einheitlichem, rundem, ovalem oder nierenförmigem Kern und mit ganz ähnlichen, oft noch recht spärlichen Körnchen im Protoplasma — also typische „Mastmyelozyten“, die ebenfalls den strengsten Vergleich mit echten eosinophilen oder spezialgranulierten Myelozyten aushielten. Ich habe ferner beim Embryo neben jungen Myelozyten der anderen zwei Arten auch Mastmyelozyten und

Mastleukozyten im Mesenchym und im Knochenmark auf ganz ähnliche Weise sofort als typische, leicht erkennbare Zellform aus indifferenten lymphoiden Elementen entstehen sehen. Dasselbe konstatierte ich beim Studium der experimentellen heterotopen Entwicklung des myeloiden Gewebes im erwachsenen Organismus — beim Kaninchen in der Niere nach Unterbindung der Blutgefässe; auch hier konnte man neben eosinophilen und pseudo-eosinophilen Myelozyten aus denselben indifferenten lymphozytoiden Wanderzellen auch Mastmyelozyten und Mastleukozyten entstehen sehen. Ja noch mehr — ich habe sowohl im embryonalen Knochenmark, als auch bei der postfötalen heterotopen Histogenese des myeloiden Gewebes in der Kaninchenniere zahlreiche Mitosen in bereits granulareichen Mastmyelozyten gefunden und sie ausführlich beschrieben und abgebildet. Alle diese Tatsachen betrachtete ich, wie ich glaube mit gutem Recht, als ganz zwingende Beweise dafür, dass die Blutmastzellen eine besondere, spezifisch differenzierte Zellart vorstellen, mit Fähigkeit zu homoplastischer mitotischer Wucherung im jugendlichen Myelozytenzustand und zur Reifung unter Granulavermehrung und Kernzerschnürung, eine Zellart, die somit in allen Beziehungen den anderen beiden Granulozytenarten ebenbürtig erscheint.

Unter den neueren Hämatologen finden sich indessen nur wenige Autoren, die sich in der eben angeschnittenen Frage des Charakters, des Wesens und der Bedeutung der Blutmastzellen auf denselben Standpunkt stellen, wie ich. So hatte vor allem Türk schon früher (20. I. Teil) und wieder erst vor kurzem (20. II. Teil) seinen diesbezüglichen Standpunkt dahin präzisiert, dass er die Körnung der Blutmastzellen für ein ebenso spezifisches Stoffwechselprodukt des Zellprotoplasmas betrachte, wie die eosinophile und spezielle. Die Körnung sei ebenso regelmässig und scharf und die angeblichen, von anderen Autoren beschriebenen Verklumpungen der Körner, Vakuolen usw. wären bloss die Folge unzuweckmässiger, die Granulation zerstörender Methoden, also Artefakte. Nägeli (15) nennt ebenfalls die Blutmastzellen mit polymorphem Kern eine reife, vollentwickelte, in ihrer Entwicklung abgeschlossene Zellspezies und hält ihre Körnung für eine wahre, endogene, der neutro- und eosinophilen analoge. Endlich äussert sich auch Ferrata in seiner neuen Monographie über die Morphologie des Blutes (4a) und in einer

anderen, zusammen mit Golinelli (5) verfassten Arbeit in demselben Sinne. Er findet unter anderem auch bei vitaler Färbung keine Anzeichen von degenerativen Veränderungen in den normalen Blutmastzellen und beschreibt sie als eine besondere Art echter Granulozyten.

Im Gegensatz zu der angeführten Anschauung über das Wesen und die morphologische Bedeutung der Blutmastzellen hat sich allmählich eine andere Lehre entwickelt, die diesen Elementen einen ganz anderen Platz unter den Zellformen des Blutes zuweist. Als Hauptvertreter dieser Lehre kann Pappenheim (zum Teil auch Weidenreich) bezeichnet werden.

Pappenheim hatte schon früher, z. B. im Jahre 1904 (16, S. 165 und 405), mehrmals darauf hingewiesen, dass sich die Körnung der Blutmastzellen in vielen Hinsichten von den Körnungen der übrigen granulierten Leukozyten unterscheide; sie soll nicht so gleichmässig und scharf begrenzt sein, sondern aus kleineren und grösseren, oft grobklumpigen Körnchen bestehen, unregelmässig verteilt sein und oft wie zusammengelaufene tropfige Schmelze aussehen. Nach weiteren Feststellungen Pappenheims (16a, 17) soll sie keine echte spezifische Körnung im Sinne der eosinophilen, also ein plastisches Differenzierungsprodukt des Zellleibes vorstellen, sondern eher eine blosse chemische Umwandlung und Verklumpung des Spongioplasmas selbst, also gewissermassen ein Degenerationsprodukt. Nach den Färbungsreaktionen der Mastkörner glaubt Pappenheim sie als mukoides Degenerationsprodukt des Spongioplasmas bezeichnen zu können. Dieser Degenerationsprozess soll lymphoide Zellen verschiedenster Art befallen können und dadurch erkläre sich das Auftreten der Mastkörner in Zellen von sehr verschiedener Grösse, mit verschiedenem Kern, selbst in Plasmazellen (Plasmamastzellen) oder in anderen Granulozyten; dadurch sollen sich endlich die Blutmastzellen, im Gegensatz zu den je nach der Tierart variablen α - und Spezialzellen, ganz wie die lymphoiden Zellen, in genau der gleichen Formation konstant bei allen Wirbeltierklassen finden.

Weidenreich (21, 22) beschreibt im normalen menschlichen Blute die Mastleukozyten als Zellen mit im allgemeinen „kompaktem“, d. h. annähernd rundlichem Kern, der aber oft ein wenig gestreckt oder eingebuchtet ist oder endlich auch zu einer ganz unregelmässigen Lappenbildung und Segmentierung neigt,

die sich aber von der der beiden anderen granulierten Leukozytenarten charakteristisch unterscheidet. Bei Leukämie wird der Kern noch viel polymorpher. Die Körnchen im Protoplasma variieren stark in Grösse und Zahl, auch die Form zeigt grosse Differenzen, insofern runde mit länglichen und eckigen Körnern abwechseln. Die Muzinnatur der Granula hält Weidenreich für unbewiesen. Da nun Weidenreich in keinem menschlichen Mastleukozyt Zentralkörper darstellen konnte, die Veränderung der Kernform und die Körnchenbildung den Charakter sehr unregelmässiger Prozesse tragen und auch sonst Anzeichen degenerativer Zellprozesse, wie z. B. Vakuolisierung des Protoplasmas, existieren, glaubt er die Mastleukozyten des Menschen als degenerierende Zellen deuten zu müssen, als Lymphozyten bzw. mononukleäre Leukozyten, die einer besonderen degenerativen Umwandlung unterworfen sind, welche sich in einer ausserordentlich unregelmässigen Fragmentierung des Kernes und im Auftreten basophiler Körnchen und Vakuolen im Plasma äussert. Die basophile Körnung soll dabei als Produkt der Kernumformung entstehen durch Abgabe chromatischer Kernsubstanz in Form von Knospen in das Zellplasma. Da die Mastleukozyten des Menschen bloss degenerierende Elemente sind, die aus ungranulierten lymphozytären Formen in der Zirkulation, zum Teil vielleicht auch in den Blutorganen gebildet werden, so leugnet Weidenreich hier naturgemäss auch die Existenz besonderer Mastmyelozyten und die Herkunft der Mastmyelozyten aus dem Knochenmark.

Indessen will Weidenreich diese beim Menschen erhobenen Befunde keineswegs verallgemeinern. Im Gegenteil, er konstatiert selbst, dass bei einem Säugetier, welches er in dieser Richtung genauer untersuchte, nämlich beim Meerschweinchen, die Mastleukozyten doch den Charakter richtiger Granulozyten mit spezifischer, der eosinophilen und amphophilen ebenbürtiger basophiler Körnung und typischem polymorphem Kern besitzen. Hier soll es dementsprechend im Knochenmark auch besondere, selbständiger Vermehrung fähige Mastmyelozyten geben, wie sie schon vorher von Jolly (6, 7) und mir (11) beschrieben worden waren.

Weidenreich kommt folglich zum Schluss, dass jedenfalls nicht alle als Blutmastzellen beschriebenen Leukozyten morphologisch gleichwertige Elemente sind; man soll zwei Typen derselben unterscheiden. Als Repräsentanten können dienen Typus

Mensch und Typus Meerschweinchen; der erste stellt bloss in besonderer Weise degenerierende Lymphozyten vor, der zweite Granulozyten mit spezifischer echter Körnung.

Ich möchte an dieser Stelle noch Pröscher (19) zitieren. Er berichtet über seine am Kaninchenblut gewonnenen Befunde und hält die hämatogene Mastzellenkörnung bei diesem Tier nicht für eine echte Körnung, sondern, im Anschluss an Pappenheim, für das Produkt einer mukoiden Degeneration des Zelleibes gewisser Lymphozyten und lymphoider ungekörnter einkerniger Leukozyten. Obwohl er im Knochenmark basophile Myelozyten findet, hält er ihren Übergang ins Blut doch für ausgeschlossen und erklärt die Blutmastzellen für innerhalb der Blutbahn durch einen degenerativen Prozess aus den hämatischen Lymphozyten entstandene Elemente. Merkwürdigerweise betont er ausdrücklich, alle Mastleukozyten beim Kaninchen seien rundkernig (vergl. weiter unten).

Die neueste Entwicklungsphase der geschilderten Richtung im Studium der Mastleukozyten wird durch eine Reihe von Arbeiten gekennzeichnet, die unlängst von Pappenheim und seinen Schülern Benacchio, Kardos und Szécsi veröffentlicht worden sind.

Benacchio (1) stellte sich zur Aufgabe, zu entscheiden, ob im Knochenmark beim Kaninchen und Meerschweinchen wirklich echte Mastzellen in Form von Mastmyelozyten vorkommen. Bei beiden Tieren fand er im Knochenmark einkernige Zellen mit groben basophilen Körnern. Er hält sie aber doch nicht für Mastmyelozyten und zwar aus folgenden Gründen. Erstens sollen sich die Granula nicht nur mit basischen Farben, sondern auch mit einigen sauren (Indulin) färben und auch sonst in manchen Beziehungen anders reagieren, als es für die richtigen Mastzellenkörner angenommen wird. Ferner fand er eosinophile Myelozyten, die zwischen den eosinophilen Körnern dieselben basophil-metachromatischen Granula enthielten und überhaupt alle Übergänge von den basophilen Granulationen zu den echten eosinophilen mit allmählichem Schwund der Basophilie. Endlich konnte er auch bei den Spezialmyelozyten ganz ähnliche Verhältnisse konstatieren, nämlich allmähliche Reifung einer ursprünglich sehr feinen basophil-metachromatischen Körnung zu reifer pseudoeosinophiler. Die genannten basophil-gekörnten Zellen stellen nach Benacchio folglich keineswegs Mastmyelozyten vor, sondern bloss unreife,

unreifkörnige eosinophile Zellen, resp. Spezialzellen. Er behauptet zum Schluss kategorisch, dass im normalen Knochenmarkparenchym beim Kaninchen und Meerschweinchen keine Mastzellen existieren.

Kardos' Arbeit (8) lehnt sich unmittelbar an die von Benacchio an, sie behandelt auch das Knochenmark derselben zwei Tierarten, bloss wurden nicht Deckglaspräparate, sondern Schnitte untersucht. Auch er negiert vollkommen das Vorkommen von Mastzellen und überhaupt von basophilen Zellkörnungen im Knochenmark; sogar die an Deckglaspräparaten basophil erscheinenden Jugendformen der eosinophilen und pseudoeosinophilen Granula erweisen sich im Schnitt nicht basophil, sondern nur schwächer oxyphil.

Pappenheim und Szécsi (18) bestätigen die früheren Angaben Pröschers, dass beim Kaninchen normalerweise im Blute Mastzellen ziemlich reichlich vorkommen und zwar einfachkernige schmalleibige von lymphozytiformem Habitus. Bei Saponinvergiftung wurden diese einkernigen Mastzellen aber ausserordentlich spärlich und es traten an ihre Stelle unreife spezialkörnige β -amphooxyphile Zellen mit Granulis, in welchen die basophile Quote noch deutlich überwog und welche deswegen als basophile Körnchen imponierten. Die jüngsten Zellen dieser Art hatten einen ungeteilten Kern und ausschliesslich nur basophile Primitivgranula.

Auf Grund dieser und der anderen, oben zitierten Beobachtungen kommt Pappenheim neuerdings (1, 18) zu einer ganz besonderen Anschauung über die Blutmastzellen.

Er unterscheidet (abgesehen von den Gewebsmastzellen) erstens „echte, eigentliche“ und zweitens „unechte, uneigentliche“ Blutmastzellen. Die ersten, die echten, kommen normalerweise im Blute des Menschen und des Kaninchens vor und sollen als mukoid degenerierte Lymphoidzellen angesehen werden; sie sind einfachkernig, entstehen in der Blutbahn, im zirkulierenden Blute selbst, haben keine myelozytenähnliche Jugendform im myeloiden Gewebe und sind also keineswegs als richtige Granulozyten zu betrachten; ihre Körnung soll ein blosses Verklumpungsprodukt von mukoid degeneriertem Spongioplasma sein, in das azurophile Chromidien (aus dem Kern) mit eingetreten sind. Die unechten Mastzellen, die normalerweise z. B. im Meerschweinchenblute zirkulieren, unter den angegebenen pathologischen Bedingungen aber auch beim

Kaninchen in der Zirkulation auftreten, sollen nicht, wie Weidenreich annimmt, echte Granulozyten mit spezifischer basophiler Körnung sein, sondern bloss abortive, unfertig ausgebildete, oxyphile oder spezialgranulierte gekörnte Leukozyten, vielleicht auch reife Granulozyten mit „basophiler“ Degeneration reifer Körner. Endlich soll nach Pappenheim eine Kombination der beiden genannten Möglichkeiten der Blutmastzellenbildung möglich sein, wenn nämlich in Zellen, welche eosinophile oder spezielle Granula ausarbeiten, mukoide Degeneration eintritt.

Ich befinde mich schon lange im Besitz von Tatsachen, welche sich mit der erörterten modernsten Lehre von den Blutmastzellen, die, wie es scheint, auch schon im Begriffe steht, eine herrschende Stellung in der Wissenschaft einzunehmen, in keiner Weise vereinigen lassen, ihr vielmehr in schroffster Weise widersprechen. Ein bedeutender Teil dieser Befunde ist auch schon, wie oben angegeben, publiziert worden, allerdings in Arbeiten, die zwar hämatologischen Inhalts waren, deren Titel sich aber nicht speziell auf die Mastzellenfrage bezog. Vielleicht ist dadurch die eigentümliche Tatsache zu erklären, dass in den Arbeiten von Benacchio, Kardos, Pappenheim und Szécsi und anderen meine positiven und ziemlich eingehenden Angaben über die selbständige embryonale und postfötale Entwicklung der Blutmastzellen, über das konstante Vorkommen von Mastmyelozyten im Knochenmark verschiedener Säugetiere, sogar über Mitosen in diesen Zellen und ihre Verwandlung in typische polymorphkernige basophile Leukozyten — lauter Beweise für die spezifische, gesetzmässige Entwicklungsart und die Lebensfähigkeit der Blutmastzellen — ganz und gar totgeschwiegen werden. Ich hatte seinerzeit auch Gelegenheit, die verschiedenen Zellformen des Knochenmarks beim Kaninchen und Meerschweinchen an Schnitten und Deckglaspräparaten miteinander zu vergleichen und die gegenseitigen Beziehungen der eosinophilen, spezialen und basophilen Körnchen genau zu untersuchen. Ich habe auch die basophilen Vorstufen der oxyphilen Granula gesehen, sie aber von den basophilen Granulationen streng geschieden.

Da ich es nun zu glauben wage, dass die Frage der Blutmastzellen momentan einen falschen Weg einzuschlagen droht, so möchte ich in der vorliegenden Arbeit die früher mir schon be-

kannt gewesenen Tatsachen und einige neu hinzugekommene Befunde in zusammenhängender Weise neu darlegen; es geschieht dies in der Hoffnung, die Sachlage etwas zu klären und zu vereinfachen und die ganze Frage vielleicht doch noch in eine andere Richtung zu lenken.

Es gilt vor allem folgende Fragen zu entscheiden:

1. Gibt es tatsächlich zwei Arten von Mastzellen, histiogene und hämatogene und in welchen genetischen Beziehungen stehen sie zueinander? Können sie nur in ihrem ausgereiften Zustande unterschieden werden und haben sie postembryonal oder embryonal eine gemeinsame Stammform, oder entstehen sie überall von Anfang an als zwei ganz getrennte Zellstämme? Für die Entscheidung dieser Frage sind naturgemäss embryologische und eventuell auch experimentelle Untersuchungen massgebend. Deswegen wird diese Frage an dieser Stelle vorläufig nicht endgültig entschieden werden können.

2. Stellen die Blutmastzellen eine einheitliche Zellgruppe bei den verschiedenen Säugetieren vor oder können unter ihnen verschiedene Typen unterschieden werden?

3. Sind die Blutmastzellen eine besondere, spezifisch und gesetzmässig differenzierte Granulozytenart des myeloiden Gewebes oder sind sie bloss besondere Entwicklungsstadien anderer Granulozytenarten? Stehen sie überhaupt in irgendwelchen genetischen Beziehungen zu den letzteren oder nicht? Gibt es in den blutbildenden Organen, speziell im Knochenmark, besondere selbständige Mastmyelozyten oder nicht?

4. Stellen die Blutmastzellen und ihre eventuellen Jugendformen Elemente mit Anzeichen degenerativer Veränderungen vor, oder sind sie, ebenso wie die anderen Granulozyten, spezifisch und gesetzmässig entwickelte, in den Jugendformen sogar wuchrungsfähige Elemente?

Material und Methoden.

Ich studierte die Blutmastzellen im zirkulierenden Blute und an ihrem Entstehungsorte, im Knochenmark, beim Menschen in verschiedenem Alter und bei Kaninchen, Meerschweinchen, Ratte und Hund. Ausserdem habe ich schon früher Erfahrungen mit dem Igel, der Katze und der Maus gemacht, worüber ich seinerzeit bereits berichtet habe.

Ich untersuchte erstens das normale zirkulierende Blut, von welchem ich in der üblichen Weise trockene und feucht fixierte Abstrichpräparate auf

Deckgläschen machte, und zweitens das Knochenmark. Zur Gewinnung des letzteren gebrauchte ich beim Menschen ganz frische, lebenswarme Rippenstücke, die bei Empyemoperationen reseziert wurden. Die Stücke wurden im Schraubstock eingeklemmt und das Mark aus einer frisch angelegten Sägefläche ausgepresst. Bei den genannten Tieren, erwachsenen und neugeborenen, wurde sofort nach der Tötung die Markhöhle des Oberschenkels geöffnet. Vom Mark wurden Abstrich- und Abklatschpräparate auf Deckgläschen gemacht. Schnitte waren diesmal für meine Zwecke unnötig, da ich ja nur zytologische Verhältnisse, also einzelne Zellen studieren wollte. Übrigens habe ich früher schon mehrere Male auch an Schnittpräparaten des Markes gewonnene Resultate über Mastleukozyten publiziert.

Was nun die weitere Behandlung der Deckglaspräparate betrifft, so muss ich vor allem hervorheben, dass für zytologische Studien, die sich nicht nur auf die färberische Darstellung der Leukozytengranula beziehen, sondern auch über die Natur der anderen Zellbestandteile Aufschluss geben wollen, die in den Kliniken so beliebten trockenen Ausstrichpräparate ganz untauglich sind. Jedenfalls darf man sich nicht auf sie allein beschränken, da man sonst Gefahr läuft, zu den grössten Trugschlüssen zu gelangen. Ich wiederhole dies hier noch einmal, wie ich mich darüber auch schon früher an anderen Stellen viele Male geäussert habe, allerdings, wie es scheint, ohne grossen Erfolg. Ich bin der Überzeugung, dass nur feucht fixierte Präparate ein Eindringen in die feineren Strukturdetails der Zellen gestatten, namentlich was den Kerncharakter betrifft. Wenn trockene Blutpräparate manchmal noch mehr oder weniger gut erhaltene Reste von Zellstrukturen zeigen und vom gewohnheitsmässigen Standpunkt „schön“ genannt werden können, so bieten Trockenpräparate vom Knochenmark jedenfalls immer das Bild einer solchen Zerstörung dar, zeigen so verzerrte und plattgedrückte Zelleichen, dass man sich nur wundern muss, warum diese barbarische Methode bis jetzt noch überall der in der Handhabung nicht weniger bequemen und schnellen und dabei ausserordentlich zuverlässigen feuchten Fixierung von Deckglaspräparaten vorgezogen wird. Dies ist entschieden zu bedauern, und ich bin sicher, dass manche vom biologischen Standpunkt vollständig irrige Auffassung von hämatologischen Dingen aus der Wissenschaft sofort verschwinden würde, wenn man sich nur die Mühe geben würde, nicht nur die allein seligmachende Trockenmethode, sondern auch andere zweckmässigeren Verfahren zu gebrauchen.

Was die Fixierungsmittel anbelangt, so erheischt die besondere Natur der Mastzellengranula in dieser Beziehung ganz spezielle Methoden und Vorsichtsmassregeln. Es ist schon längst bekannt (Michaelis, Wolff, Maximow), dass die Substanz der Mastzellengranula wasserlöslich ist. Diese Löslichkeit wechselt zwar in ihrem Grade bedeutend, je nach der Tierart und je nach der Mastzellenart, sie ist aber stets vorhanden und gehört zweifellos zu den typischen Merkmalen der Mastzellenkörnung. Um so merkwürdiger ist es nun, dass trotz dieser allgemein bekannten Eigenschaft der Mastzellenkörnung gerade die neuesten Autoren, die über die Mastzellen geschrieben haben, bei der Wahl ihrer Methodik diesen Umstand gar nicht zu berücksichtigen schienen. So haben Benacchio und Pappen-

heim und Szécsi gewöhnliche Trockenpräparate von Blut und Knochenmark angefertigt und diese dann mit May-Grünwald und Giemsa nach Pappenheim gefärbt; ebenso bearbeitet auch Kardos seine Schnittpreparate ausnahmslos mit Wasser und wässrigen Lösungen. Es steht für mich aber zweifellos fest, dass gerade in diesem kleinen Umstand die Hauptursache dessen liegt, dass die verschiedenen Untersucher zu so verschiedenen Ergebnissen in betreff der Mastzellen kommen.

Wie Michaelis und ich selbst schon früher angegeben haben, ist es unbedingt nötig, die frischen Gewebelemente mit absolutem Alkohol zu fixieren. Weiterhin ist es notwendig, auch die Farblösungen mit nicht zu schwachem Alkohol herzustellen.

Gewiss kann man oft bei dieser oder jener Tierart histogene oder hämatogene Mastzellen auch nach der Fixierung und Färbung mit wässrigen Lösungen finden, wenn ihre Granula in Wasser eben nur schwer löslich sind; um aber gewiss zu sein, dass in der Tat alle überhaupt vorhandenen basophil granulierten Elemente färbetisch dargestellt sind oder, bei ihrem Fehlen im Präparat, dass solche Elemente im lebenden Objekt wirklich nicht vorhanden waren, müssen Wasser und wässrige Lösungen unbedingt sorgfältigst vermieden werden. Am besten bringt man das Präparat überhaupt von Anfang bis zu Ende nicht nur nicht mit Wasser, sondern auch nicht mit Alkohol unter 75° in Berührung. Selbst eine kurze Einwirkung wässriger Farblösungen nach Alkoholfixierung kann die Gestalt der Granula stark verändern und sie verklumpen lassen.

Auf Grund des Gesagten habe ich es mir angelegen sein lassen, eine Untersuchungsmethodik zu wählen, die absolute Garantie für die intakte Erhaltung der Mastzellengranula während der ganzen Prozedur bis zum Einschluss des Präparates in Kanadabalsam gewährleisten würde.

Ein Teil der Deckglaspräparate wurde nach der gewöhnlichen Methode getrocknet und weiter behandelt. Die meisten wurden aber sofort nach der Ausbreitung der Blut- oder Marksicht, also noch feucht, in die Fixierungsflüssigkeit getan. Als solche wurde vor allem absoluter Alkohol (A) gebraucht. Man taucht die Gläschen mit der mit Gewebe beschickten Oberfläche nach oben in die Flüssigkeit ein und lässt sie am Boden des Schälchens liegen. Sie können darin bis zur Färbung, ohne Schaden zu nehmen, mehrere Tage bleiben. Ausserdem wurde stets eine Anzahl Deckglaspräparate auch mit Zenker-Formol (ZF) fixiert — in diesem Fall lässt man sie mit der Gewebsschicht nach unten auf der Flüssigkeit schwimmen. Die Fixierung mit ZF dauert bloss 10—15 Minuten, worauf man die Gläschen für 24 Stunden auf mehrfach gewechseltem destillierten Wasser schwimmen lässt. Dann kommen die Gläschen in 50° Alkohol, der mit Tinctura Jodi etwas gelb gefärbt ist, schliesslich werden sie bis zur Färbung in reinem 75° Alkohol aufbewahrt.

Zur Färbung der Alkoholpräparate gebrauchte ich in erster Linie, wie auch früher (11), konzentrierte alkoholische Thioninlösung (Th), bloss löste ich die Farbe jetzt nicht in 50°, sondern in 75° Alkohol, um jede Lösungsmöglichkeit der Mastgranula mit Sicherheit auszuschliessen. Da die einfache alkoholische Thioninlösung die Kerne relativ schwach färbt, habe ich sie

stets in etwas alkalisiertem Zustande gebraucht — zwei Tropfen einer 2proz. Lösung von Natrium carbonicum auf 10 ccm der alkoholischen Stammlösung. Nach dem Alkalisieren muss die Lösung 24 Stunden stehen, da sich während dieser Zeit ein Niederschlag bildet; nach dieser Frist ist sie gebrauchsfähig für 2—3 Wochen, muss aber vor der Anwendung jedesmal filtriert werden. In der Farblösung bleiben die Präparate 10—20 Minuten; sie werden mit absolutem Alkohol differenziert und durch Xylol in Xylo/balsam eingeschlossen.

Ausser der Thioninfärbung kann man an den mit A fixierten Deckglaspräparaten eine sehr deutliche Färbung der Mastzellengranula auch mittelst der May-Grünwald-Lösung (MGr) erzielen; um aber wiederum die Granula nicht aufzulösen, ist es notwendig, die Lösung nicht mit dem gleichen Volumen Wasser zu verdünnen, sondern auf zwei Teile der Stammlösung nur einen Teil Wasser zu nehmen; darin bleiben die Gläschen eine halbe Stunde, werden nachher mit Alkohol differenziert und in Balsam eingeschlossen.

Die mit ZF fixierten Deckglaspräparate wurden mit Eosin-Azur nach Nocht (EAz) oder mit Giemsa gefärbt. Die Trockenpräparate wurden in der verschiedensten Weise gefärbt — mit alkoholischer Thioninlösung, mit May-Grünwald-Giemsa nach Pappenheim usw.

Mensch.

Blut.

Im Blute des normalen Menschen sind bekanntlich Mastleukozyten selten. Immerhin findet man in einem jeden Deckglaspräparat bei sorgfältigem Suchen stets ein paar davon.

Nach dem oben Gesagten konnte man schon im voraus erwarten, dass die unzweideutigsten Bilder an feucht fixierten ATh-Präparaten erzielt werden würden. Und in der Tat haben in diesen letzteren die Mastleukozyten ein so typisches Aussehen, dass sie trotz ihrer Spärlichkeit sofort erkannt werden können.

Je nach der Dicke der Blutschicht erscheinen alle Leukozyten mehr oder weniger abgeplattet. Wenn die Schicht relativ dick ist, behalten die Leukozyten im Präparat ihre kugelige Form annähernd unverändert. An solchen Stellen erscheinen die Mastleukozyten als relativ kleine kugelige Zellen. Sie sind sofort kenntlich an der dunkelvioletten Körnung, die ihr Protoplasma erfüllt (Fig. 1). Die Körnchen sind ziemlich grob, liegen dicht beieinander, der Kern schimmert zwischen ihnen nur undeutlich hindurch; man erkennt immerhin, dass er aus einzelnen kugeligen Abschnitten besteht. In den dünneren Stellen erscheinen die mehr abgeplatteten Mastleukozyten etwas grösser (Fig. 2). Hier erblickt man deutlich das blassblaue, anscheinend vollständig homogene, keine Vakuolen enthaltende Protoplasma und in ihm die dunkel-

violetten Körnchen. Es ist zweifellos richtig, dass sie von nicht ganz gleichmässiger Grösse sind (Weidenreich). Meistens findet man in ein und derselben Zelle gröbere und feinere Körner und viel seltener Zellen mit fast gleichmässig grossen, in diesen Fällen meist etwas feineren Körnchen. Diese Unterschiede der einzelnen Fälle sind aber jedenfalls durch alle möglichen Übergangsformen verbunden und haben keine Bedeutung; die spezifische basophile Substanz kann eben unterschiedslos in feineren und gröberen Körnchen auftreten. Jedenfalls finde ich nach der genannten Bearbeitung alle Körnchen in den Mastleukozyten stets vollkommen regelmässig rund. Von Verklumpungserscheinungen, Vakuolisierung usw. fehlt jede Spur.

Der Kern der menschlichen Blutmastzellen ist stets polymorph. Er erscheint in mehrere, meist drei- oder vierteilige, kugelige oder ovale Abschnitte zerschnürt, die miteinander durch dünnere, manchmal fadenförmige Brücken zusammenhängen. Wenn die Zelle kontrahiert und kugelig erscheint, überlagern sich die Abschnitte so, dass eine kompakte Kernform vorgetäuscht wird und man die einzelnen bläschenförmigen Teile nur undeutlich unterscheiden kann (Fig. 1). Die innere Kernstruktur bietet mit ihrem Gerüstwerk nichts Besonderes dar. Sie erscheint jedenfalls lockerer und heller (Fig. 2, 20—24), als in den Kernen der neutrophilen Leukozyten (Fig. 29). Ich muss noch hervorheben, dass sämtliche Mastleukozyten, abgesehen von ihrer etwas feineren oder etwas gröberen Körnung, ein ganz stereotypes, gleichmässiges und charakteristisches Aussehen besitzen, ebenso wie die neutrophilen und eosinophilen Leukozyten.

Wenn wir jetzt die Bilder vergleichen, die die Mastleukozyten nach anderen Bearbeitungen darbieten, so finden wir sofort grosse Abweichungen von dem oben beschriebenen Bilde. Am ähnlichsten sehen die Mastleukozyten noch an mit AMGr bearbeiteten Deckglaspräparaten aus (Fig. 3). Der Kern färbt sich dabei sehr blass und in einem himmelblauen Ton (der auf der Tafel der Reproduktionsschwierigkeiten wegen nicht genau wiedergegeben wurde). Die Körnchen sehen aber schon etwas verändert aus: ein Teil von ihnen, besonders die grösseren, erscheint deutlich gequollen, manche weisen eckige Umrisse auf. Sie sind hier nicht rotviolett, sondern dunkelblauviolett gefärbt, was auf der Tafel auch nicht berücksichtigt werden konnte.

An feucht mit ZF fixierten, mit EAz gefärbten Blutpräparaten ist es nicht gut möglich, die Mastleukozyten zu identifizieren, da die Granula meist restlos aufgelöst sind; man kann sie nur vermutungsweise in einzelnen Zellen mit vakuolisiertem Protoplasma erkennen.

An Trockenpräparaten, die zuerst mit der MGr-Stammlösung 3 Minuten lang fixiert und nachher nach Zusatz von ein Drittel Volumen Wasser zu derselben Lösung 10 Minuten lang gefärbt wurden, erscheinen die Mastleukozyten stark verändert (Fig. 4). Der Kern hat die für Trockenpräparate typische verschwommene innere Struktur und unscharfe Konture. Die Körner sind fast sämtlich deformiert und erscheinen eckig, stäbchenförmig oder kommaförmig gekrümmt. Nach gewöhnlicher MGr-Giemsa-Färbung nach Pappenheim ist die Zerstörung noch augenfälliger (Fig. 5): in der Mitte des Zellkörpers sieht man den undeutlich begrenzten violetten Kern, während das Protoplasma stark vakuolisiert erscheint; von den Körnern erblickt man nur unscharf begrenzte unförmliche Überreste, die das Aussehen von eckigen, zum Teil verklumpten Flecken haben.

Es braucht wohl nicht erst bewiesen zu werden, dass den tatsächlichen Verhältnissen nur die an ATh-Präparaten erhaltenen Mastleukozytenbilder entsprechen. Hier sehen wir sie als sehr charakteristische, ganz einförmige Zellen mit einem immer polymorphen Kern und mit scharf begrenzten, kugeligen Körnern im Protoplasma, die den Zelleib ziemlich gleichmässig und in bedeutender Zahl erfüllen. Die nach anderen Methoden auftretenden Bilder sind sämtlich mehr oder weniger stark ausgeprägte Artefakte.

Es erhellt aus der angeführten Beschreibung, dass wir, soweit man nach der Blutuntersuchung allein urteilen darf, keinen genügenden Grund haben, die Mastleukozyten des Menschen als den anderen granulierten Leukozyten nicht ebenbürtige Zellen, etwa als degenerierende Lymphozyten, zu betrachten. Sie bieten keine Anzeichen von Degeneration dar, ihr Kern ist immer in seiner eigenen typischen Art polymorph, die Körnung ist ebenso spezifisch ausgebildet und scharf begrenzt, wie die beiden anderen Körnungen. Die Mastleukozyten des Menschen stellen eine echte, mit einer besonderen spezifischen Granulation ausgestattete Leukozytenart vor.

Von den Beschreibungen anderer Autoren deckt sich die meinige vollkommen mit der von Türk (20), Nägeli (15) und Ferrata (4a, 5). Auch sie halten die Mastleukozyten, wie gesagt, für richtige, spezifische Granulozyten mit gleichmässiger, scharf begrenzter Körnung und erklären die abweichenden Angaben anderer Autoren auch als das Resultat einer unzuweckmässigen Methodik. Ferrata und Golinelli (5) haben speziell auch durch vitale Färbung bewiesen, dass die eben angeführte Beschreibung den tatsächlichen intravitalen Verhältnissen entspricht.

Die abweichenden Resultate der anderen Forscher glaube ich sämtlich dadurch erklären zu müssen, dass sie wässrige Lösungen zum Fixieren oder zum Färben gebraucht haben und ausserdem in den meisten Fällen Trockenpräparate untersuchten. Die von Weidenreich (21, 22) gegebenen Bilder nähern sich entschieden noch am meisten der Wirklichkeit; doch auch hier wird sich wahrscheinlich ein Teil der Körnchen aufgelöst haben, weshalb ihre Zahl viel kleiner ist, als nach ATh und die gebliebenen Granula ausserdem zum Teil deformiert erscheinen. Die Kernabschnitte sind durch das Austrocknen zum Teil geschrumpft, zum Teil mit den Körnchen verklumpt und dadurch sind vermutlich die fingerförmigen Fortsätze am Kern entstanden, die Weidenreich an eine Entstehung der Körner aus der Kernsubstanz denken liessen. In Wirklichkeit gelingt es jedoch an feucht fixierten ATh-Präparaten, wie ich es oben beschrieben habe, nicht, irgendwelche Beziehungen zwischen Kern und Granulationen zu konstatieren; selbst die Färbung der beiden erscheint ja z. B. nach AMGr total verschieden — der Kern hell und himmelblau, die Körner alle gleichmässig dunkelblauviolett. Die Bilder der Mastleukozyten in Pappenheims Atlas (17) stellen sicherlich stark lädierte Zellen vor, deren Protoplasma infolge der Auflösung der Granula von Vakuolen durchsetzt erscheint, zwischen welchen nur mehr Spuren der metachromatisch-basophilen Substanz übriggeblieben sind. Auch sind die Umrisse des Kernes meistens ganz undeutlich, z. B. auf Taf. 29, Prototyp 48. Das krasseste Beispiel der zerstörenden Wirkung des Eintrocknens und der nachherigen Behandlung der Mastleukozyten des Menschen mit wässrigen Lösungen finde ich im Werke von v. Decastello und Krjukoff (2, Taf. II, Fig. 20); es ist

mir völlig unverständlich, wie man auf Grund solcher Artefakte grösster Art neue Theorien über einen besonderen „faserigen“ Aufbau von Kern und Protoplasma konstruieren kann.

Dass die beschriebenen, im normalen Blute kreisenden Mastleukozyten beim Menschen eine ganz andere Zellart sind, als die gewöhnlichen Gewebsmastzellen, wie man sie z. B. in jedem beliebigen, mit alkoholischer Thioninlösung gefärbten Schnitt von einem mit Alkohol fixierten Stückchen Menschenhaut sehen kann, ist zweifellos. Da die Gewebsmastzellen auch im Knochenmark beim Menschen vorhanden sind, werde ich sie bei der Besprechung der Knochenmarkbefunde näher beschreiben.

Knochenmark.

An mit ATh behandelten Deckglaspräparaten vom Rippenmark des Menschen erblickt man sofort Zellen, die sich von den übrigen durch die Anwesenheit von basophilen, metachromatischen, dunkelrotviolett gefärbten Körnchen im Protoplasma unterscheiden. Diese Färbung ist so scharf, dass man die Zellen schon bei schwacher Vergrösserung erkennt. Ebenso deutlich treten diese basophil gekörnten Zellen auch an mit Alkohol fixierten und mit MGr gefärbten Präparaten hervor, wo die Granula dunkelblauviolett erscheinen. Da jedoch hier die Kerne einen nur sehr blassen himmelblauen Ton und keine deutlichen Umrisse haben, sind ATh-Präparate in jeder Beziehung vorzuziehen. Der folgenden Beschreibung liegen deswegen ATh-Präparate zugrunde.

Im menschlichen Knochenmark sind die basophil gekörnten Zellen im allgemeinen selten, viel spärlicher, als die eosinophilen und besonders die neutrophilen Granulozyten. Merkwürdig ist die individuelle Schwankung ihrer Zahl. Während die letztgenannten zwei Arten in allen Fällen in ziemlich gleichen Mengen getroffen werden, sind die basophilen Granulozyten in dem einen Fall selten, in dem anderen bedeutend zahlreicher. Dies wird wahrscheinlich durch ihre ungleichmässige Verteilung im Markgewebe zu erklären sein.

Die weitaus grösste Mehrzahl der basophil gekörnten Zellen gehört zum Typus der Blutmastzellen.

Unter ihnen finden wir in der Tat vor allem dieselben reifen Mastleukozyten, wie ich sie soeben im zirkulierenden Blute beschrieben habe; oft erscheint das Protoplasma dieser Zellen

hier mit solchen Auswüchsen versehen, dass man sich des Gedankens der amöboiden Bewegung nicht erwehren kann (Fig. 20—24).

Ferner sind aber überall auch ein- oder kompaktkernige Zellen zerstreut, die im Protoplasma dieselbe basophil-metachromatische Körnung führen. Die Substanz der letzteren sieht überall gleich aus, auch variiert die Grösse der Körner nur innerhalb verhältnismässig enger Grenzen. Im übrigen bieten jedoch diese Zellen ein sehr verschiedenartiges Aussehen dar (Fig. 6—17). Bei der Beschreibung gehe ich von Zellen aus, die noch sehr wenig Körnchen enthalten.

Hier findet man erstens relativ grosse Zellen mit grossem, rundem, meistens einseitig etwas eingedrücktem oder mehr oder weniger tief eingekerbtem Kern (Fig. 6, 7, 8). Innerhalb des Kernes sieht man ausser einigen Nukleolen, die mitunter auch einen Stich ins Violette zeigen, ein sehr lockeres, zartes Gerüst mit spärlichen eckigen Chromatinteilchen. Der ganze Kern erscheint meistens deutlich heller, als der Kern der anderen Granulozyten. Das Protoplasma ist äusserst zart und so hell, dass man seine Umrisse nur mit Mühe bestimmen kann. Eine sichtbare innere Struktur besitzt es in der Regel nicht, selten tritt eine lockere netzartige Zeichnung hervor. In der Mehrzahl der Fälle sammelt sich das Protoplasma an der einen Seite des Kernes, gewöhnlich an der Einkerbung, in Form einer kleinen Anschwellung an. Seltener bildet es einen ganz gleichmässigen, schmalen, kaum sichtbaren oder etwas breiteren Saum.

Im Protoplasma sieht man dunkelrotviolett gefärbte, scharf hervortretende Körnchen liegen; sie sind noch sehr spärlich und häufen sich in der Regel in der breiteren Plasmaansammlung an der eingekerbten Kernseite an (Fig. 6, 9); seltener sind sie gleichmässig im dünnen, den Kern umgebenden Saum verteilt. Die Körnchen sind stets regelmässig rund, kugelförmig, scharf begrenzt; nirgends sieht man eckige oder verklumpte Formen. Ihre Grösse ist hingegen verschieden. Von den kleinsten, die an der Grenze des Sichtbaren stehen, gibt es alle Übergänge zu schon ziemlich groben Körnern (Fig. 8, 11). Immerhin wird von den letzteren der Umfang der eosinophilen Körner nur selten erreicht.

Von diesen grossen Zellen gibt es alle Übergänge zu kleineren, mit der gleichen, ebenfalls sehr spärlichen Körnung

(Fig. 9—11): solche kleinere Zellen können einen hellen Kern und einen relativ breiten Plasmasaum besitzen, oder einen etwas dunkleren Kern und einen kaum sichtbaren schmalen Protoplasmasaum. Im letzten Fall treten an dem Kern meistens tiefe Falten der Membran hervor.

Es ist über alle Zweifel erhaben, dass wir es hier mit lymphoiden Zellen zu tun haben, in deren Protoplasma eine spezifische, basophil-metachromatische Substanz in Körnchenform ausgearbeitet wird. Die Zahl der Körnchen nimmt allmählich zu und von den beschriebenen Zellen gibt es infolgedessen eine ununterbrochene Reihe fließender Übergangsformen zu schon reichlicher granulierten einkernigen Zellen (Fig. 12—15).

Die absolute Grösse dieser körnchenreicheren Zellen, die relative Grösse von Kern und Plasma, die äussere Form des Kernes wechseln erheblich. Am häufigsten sind Zellen von mittlerer Grösse zu treffen (Fig. 14, 15), die im Durchschnitt kleiner sind, als die eosinophilen und neutrophilen Myelozyten. Der Kern ist nierenförmig oder erhält zahlreiche breite buckelförmige Vorsprünge an der Oberfläche, seine innere Struktur bleibt ziemlich unverändert und er behält das helle Aussehen. Die Körner bilden auch jetzt meistens eine dem Kern nur einseitig anliegende, im optischen Querschnitt sichelförmige, dichte Ansammlung; auch jetzt sind sie stets scharf gefärbt, regelmässig rund, aber von ungleicher Grösse. So reichlich wie in den eosinophilen und neutrophilen Myelozyten sammelt sich die Körnung in den basophil granulierten Zellen niemals an.

Von den beschriebenen Elementen gibt es nun ferner alle Übergänge zu den typischen, reifen, oben beschriebenen Mastleukozyten. Man sieht, wie in den kleineren Formen der reichlich granulierten Zellen (Fig. 18, 19) der Kern allmählich immer tiefere und tiefere Falten bekommt und wie auf diese Weise aus einer kompaktkernigen Zelle eine polymorphkernige reife Blutmastzelle, ein Mastleukozyt, entsteht.

Als was sind nun die beschriebenen einfachkernigen basophil granulierten Zellen im menschlichen Knochenmark zu betrachten? Es kann kein Zweifel darüber herrschen, dass sie die Jugendformen der Mastleukozyten des Blutes sind. Sie zeigen eine allmähliche Ausarbeitung einer spezifischen Körnung in ihrem Plasma und verwandeln sich nachträglich unter progressierender Kern-

polymorphose in reife polymorphkernige Mastleukozyten, die ins Blut übertreten. Sie müssen folglich als die Myelozyten der Mastleukozyten bezeichnet werden, als Mastmyelozyten.

Dass es ganz selbständige, spezifische Zellen sind, die schon vom Moment des ersten Auftretens der basophilen Körnung in ihrem Plasma an den Weg einer irreversiblen, typischen, progressiven Entwicklung betreten, wird durch den Vergleich mit den anderen im Präparat vorhandenen Granulozytenarten deutlich bewiesen. Bei allen Färbungen, wo die basophilen Granula im Präparat überhaupt erhalten bleiben, kann keine Rede davon sein, sie in genetische Beziehungen zu den eosinophilen oder neutrophilen Myelozyten zu bringen. An ATh-Präparaten tritt dies ebenso deutlich hervor, wie an AMGr-Präparaten. Nach ATh erscheinen die reifen neutrophilen Granula blassgrau gefärbt (Fig. 29); die jüngsten neutrophilen Granula in den neutrophilen Myelozyten färben sich in ihrer basophilen Quote etwas dunkler (Fig. 28); sie haben aber jedenfalls nicht die entfernteste Ähnlichkeit mit den Mastkörnern, und Übergangsformen zwischen den beiden Granulaarten gibt es nicht. Die reifen eosinophilen Granula färben sich nach ATh grün (Fig. 25, 26). In den jungen eosinophilen Myelozyten erscheint nun ein Teil dieser Granula, die bekanntlich zuerst basophil sind und erst allmählich zur vollen Oxyphilie ausreifen, deutlich blau und zwischen den blauen und den grünen sieht man alle Übergänge (Fig. 27). Aber diese primitiven blauen Granula in den jungen eosinophilen Myelozyten sind niemals metachromatisch und können ebenfalls in keiner Weise Veranlassung geben, sie mit den Mastkörnern zu verwechseln.

Gleich beim ersten Auftreten der Körnchen im Plasma der Mastmyelozyten gibt ihre Substanz sofort schon die spezifische Farbreaktion in typischer Weise. Eine von manchen Autoren angenommene ametachromatische basophile Vorstufe der Mastkörnung habe ich beim Menschen, ebenso übrigens wie bei den anderen untersuchten Säugetieren, nicht gefunden. Infolgedessen erscheinen die Mastgranulozyten bei geeigneten Fixierungs- und Färbungsmethoden als eine von Anfang an noch viel schärfer und spezifischer gesonderte Zellart, als die eosinophilen und neutrophilen, deren Granulasubstanz ja selbst noch erst allmählich vom basophilen Primitivzustand an zu dem reifen oxy- resp. neutrophilen heranreifen muss.

Es folgt aus der angeführten Beschreibung, dass im normalen Knochenmark des erwachsenen Menschen fortwährend Mastmyelozyten aus indifferenten, lymphoiden, ungekörnten Zellen (Lymphozyten) durch heteroplastische Entwicklung entstehen, die ihren sichtbaren Ausdruck in dem Auftreten der spezifischen Körnung im Protoplasma findet. Aus den Mastmyelozyten entstehen ihrerseits Mastleukozyten, die in das Blut übertreten. Einen degenerativen Charakter hat diese Entwicklung sicher nicht — man findet wenigstens keinerlei Andeutungen, die dafür sprechen würden.

Die neutrophilen und eosinophilen Granulozyten regenerieren sich beim normalen erwachsenen Menschen bekanntlich in der Hauptsache auf homoplastischem Wege, indem die bereits körnchenreichen Myelozyten mitotisch wuchern. Nun erschien es mir als eine sehr wichtige Aufgabe, auch für die Mastgranulozyten dasselbe nachzuweisen. Besonders wichtig war es deswegen, weil ja nach der heutzutage herrschenden Anschauungsweise der ganze Zelltypus der Blutmastzellen einen degenerierenden Zellstamm vorstellen soll. Gelänge es, Mitosen in den oben beschriebenen Mastmyelozyten beim Menschen nachzuweisen, wie ich es schon früher für das Kaninchen getan habe, dann wäre ja die Kette der Beweise für die richtige Myelozytennatur derselben und für die Spezifität der Blutmastzellen geschlossen und andererseits die degenerative Theorie endgültig abgetan.

Nun sind ja, wie gesagt, die basophilen Granulozyten im menschlichen Knochenmark selten; es hat mich viel Mühe und Zeit gekostet, den eben erwähnten Beweis zu erbringen. Schliesslich ist es mir aber doch gelungen. Ich fand mehrere ganz unzweifelhafte Mitosen in Mastmyelozyten im Knochenmark des erwachsenen Menschen und stelle zwei davon bildlich dar — ein Spirem (Fig. 16) und einen Mutterstern (Fig. 17). Dieser positive, unanfechtbare, bis jetzt noch von Niemandem gehieferte Beweis macht, wie ich glaube, jede weitere Diskussion über den degenerativen Charakter der Blutmastzellen gegenstandslos. Die Mastmyelozyten und Mastleukozyten sind mit genau so gutem Rechte als eine besondere Granulozytenart mit spezifischer Entwicklung zu bezeichnen, wie die eosinophilen und neutrophilen Zellen; die Art und Weise ihrer Entstehung und Reifung ist genau dieselbe, wie bei diesen letzteren.

Ausser den beschriebenen Blutmastzellen, den Mastmyelozyten und Mastleukozyten, findet man an Deckglaspräparaten vom menschlichen Knochenmark noch andere basophil gekörnte Zellen. Sie wären auf den ersten Blick geeignet, den geschilderten klaren und einfachen Entwicklungsprozess der Mastmyelozyten etwas zu komplizieren; bei genauerem Zusehen erweisen sie sich jedoch als ganz besondere Zellen — es sind nämlich dieselben histioiden oder Gewebsmastzellen, wie man sie überall im Bindegewebe treffen kann. Sie sind fast stets bedeutend grösser, als die Blutmastzellen und zeichnen sich namentlich durch ein reichliches Protoplasma aus, während der helle, blasse Kern immer rund oder oval ist und meistens keine Falten an der Membran besitzt (Fig. 30—32). Das Protoplasma ist stets durch und durch, viel gleichmässiger und dichter, als bei den Blutmastzellen, mit basophil-metachromatischen Körnchen erfüllt; diese letzteren sind im Gegensatz zu den Blutmastzellen alle von gleicher Grösse und färben sich in einem etwas anderen, nach ATh mehr bräunlichen Ton.

Dass Mastzellen von histiogenem Typus, gewöhnliche Gewebsmastzellen, im Knochenmark neben Blutmastzellen vorkommen, ist eine schon längst bekannte Tatsache (Maximow, Pappenheim), und hier, wo die beiden Typen nebeneinander liegen, sind sie besonders leicht auseinander zu halten. Wie Pappenheim dies schon öfters angegeben hat, zeichnen sich beim Menschen die Gewebsmastzellen in der Tat durch feinere und gleichmässigere, die Blutmastzellen durch gröbere und weniger gleichmässige Körnung aus. Das gilt aber bloss für den Menschen und kann nicht als eine allgemeine Eigenschaft angesehen werden, denn bei Tieren kann es sich in dieser Beziehung gerade umgekehrt verhalten.

Jedenfalls sind die Gewebsmastzellen ebenso lebensfähige, nicht degenerierende Elemente, wie die Blutmastzellen. Wie sie sich im erwachsenen Organismus regenerieren, ob durch heteroplastische Entwicklung aus lymphoiden Zellen, durch Ausarbeitung von Körnchen, ob durch selbständige mitotische Vermehrung, bleibt bekanntlich eine noch unentschiedene Frage. Im Knochenmark des erwachsenen Menschen habe ich weder für den einen, noch für den anderen Regenerationsmodus Beweise finden können. Speziell waren hier Mitosen in den Gewebsmastzellen nicht zu

konstatieren, was übrigens auch nicht wundernehmen kann, wo diese Elemente ja noch viel spärlicher sind als die Blutmastzellen. Auch muss ich speziell hervorheben, dass im Knochenmark des erwachsenen Menschen keinerlei Beziehungen zwischen den beiden Mastzellenarten zutage treten — sie verhalten sich zueinander wie zwei ganz selbständige Zellstämme.

Kaninchen.

Blut.

Das Blut des Kaninchens ist bekanntlich ziemlich reich an Mastleukozyten; sie sind hier schon längst von mehreren Autoren beschrieben worden, unter anderen habe auch ich selbst gerade für das Kaninchen ziemlich ausführliche Schilderungen dieser Zellart gegeben (11, S. 707; 9, S. 328; 12, S. 156).

Wie an einem Ath-Deckglaspräparat vom Kaninchenblut sofort zu sehen ist, stellen die Mastleukozyten eine von den übrigen Granulozyten scharf abgegrenzte, sehr typische Zellart vor. Der Kern hat das Aussehen eines ziemlich langen, unregelmässig geknickten und zerschnürten, wurstförmigen, an den Enden meist keulenförmig aufgetriebenen Schlauches; in seinem Innern sieht man ein blasses lockeres Gerüst (Fig. 40, 41). Das überaus zarte und helle Protoplasma ist dicht mit metachromatisch-basophilen, rotvioletten Körnchen erfüllt, die von ziemlich gleichmässiger Grösse und im allgemeinen etwas feiner sind als beim Menschen. Während, wie ich es früher beschrieben habe, in mit Alkohol fixierten Schnittpräparaten, infolge des langsamen Eindringens des Alkohols in die Gewebstückchen, die Granula oft deformiert und die Kerne infolge von Imbibition mit der Granulastanz oft selbst diffus metachromatisch gefärbt erscheinen, wobei einzelne Körnchen an der Kernmembran fest kleben bleiben, sind solche Artefakte an mit Alkohol feucht fixierten Deckglaspräparaten niemals vorhanden. Der Kern ist hier in der gewöhnlichen Weise scharf konturiert, die Granula sämtlich regelmässig rund, tief gefärbt und scharf begrenzt. Die Substanz der Granula der Mastleukozyten (und auch der Gewebsmastzellen) beim Kaninchen ist eben in ganz ausserordentlichem Grade wasserlöslich.

Es ist eigentümlich, dass Pröscher in seiner oben zitierten, im Jahre 1909 erschienenen Arbeit (19) die Mastleukozyten des

Kaninchens sämtlich als mononukleär, dabei ohne typisch ausgebildete Granula, sondern mit ungleichmässiger, verklumpfter Körnung versehen beschreibt, wo doch schon damals in der Literatur genaue Beschreibungen derselben Elemente existierten, die den Sachverhalt ganz anders schilderten. Ihm scheinen im speziellen meine Arbeiten vollständig unbekannt geblieben zu sein. Es ist natürlich ohne weiteres klar und wird auch durch Pröschers eigene Abbildungen bewiesen, dass die grundfalschen Resultate, zu denen er kommt, der von ihm gebrauchten unzuweckmässigen Methodik zu verdanken sind, der schon oben kritisch besprochenen Trockenmethode mit nachfolgender Färbung in wässrigen Farbflotten. Es ist aber sehr zu bedauern, dass solche Angaben, wie die von Pröscher, indem sie den Eindruck von Gründlichkeit machen, zur Grundlage für die weitere Entwicklung und Stärkung falscher Lehren werden können, in diesem Fall der Lehre, dass die Mastleukozyten innerhalb der Blutbahn degenerierende Lymphozyten vorstellen. So nimmt z. B. auch Pappenheim (1, 18) die Angaben Pröschers über die normalen Mastleukozyten des Kaninchens als etwas Feststehendes hin und erblickt gerade in dem angeblichen lymphozytiformen Charakter dieser Zellen eine besondere Stütze für die degenerative Theorie. Er selbst hat allerdings in ganz richtiger Weise beim Kaninchen im Blute nur polymorphkernige Mastleukozyten gefunden, sieht sich aber genötigt, diesen Befund als etwas Pathologisches, durch Saponinvergiftung Bedingtes aufzufassen.

Die Untersuchung des Kaninchenblutes mittelst zweckmässiger Methoden zeigt also, dass es hier zahlreiche typische polymorphkernige granulierte Leukozyten mit spezifischer metachromatisch-basophiler Körnung gibt, die durchaus den Eindruck von echten, den eosinophilen und pseudoeosinophilen ebenbürtigen Granulozyten machen und ihrem ganzen Habitus nach den Mastleukozyten des Menschen entsprechen.

Auf die scharfe Sonderung der beschriebenen Blutmastzellen, der Mastleukozyten, von den Gewebsmastzellen beim Kaninchen habe ich schon früher hingewiesen (11). Meine damaligen Ausführungen halte ich auch jetzt in allen Details aufrecht und brauche mich hier nicht ausführlich damit zu beschäftigen. Gerade das Kaninchen bietet, wie gesagt, die beste Möglichkeit, die beiden Mastzellenarten deutlich zu unterscheiden — es genügt

dazu, ein paar mit Ath behandelte Hautschnitte zu untersuchen; hier findet man stets Gewebsmastzellen und herumwandernde Mastleukozyten nebeneinander und kann sich von der grundsätzlichen Verschiedenheit beider Zellarten sofort überzeugen.

Knochenmark.

Die Verhältnisse im Kaninchenmark sind für uns von besonderer Wichtigkeit, da ja die oben zitierten Autoren, Benacchio (1), Kardos (8), Pappenheim und Szécsi (18) gerade hier den Hauptbeweis für die Nichtanerkennung der Blutmastzellen als echter, spezifischer Granulozyten gefunden zu haben glauben. Ihre Schlussfolgerungen gipfeln in der These — im Kaninchenknochenmark gibt es nicht nur keine besonderen Mastmyelozyten, sondern überhaupt keine Mastzellen. Die vorhandenen Zellen mit basophilen Granulationen, die Blutmastzellen vortäuschen, sind in Wirklichkeit bloss Jugendformen der eosinophilen und pseudoeosinophilen Myelozyten, deren Granula in ihrem primitiven Zustande basophil reagieren, um später allmählich die basophile Quote einzubüssen und zu rein oxyphilen heranzureifen. Bei Saponinvergiftung beim Kaninchen sollen nach Pappenheim und Szécsi (18) solche Jugendformen von Spezialmyelozyten mit noch basophiler Körnung auch ins Blut übertreten können. Die im Blute vorhandenen echten Mastleukozyten werden also gar nicht im Mark gebildet, haben mit den basophilen Zellen des letzteren gar nichts zu schaffen, sondern entstehen in der Blutbahn selbst durch mukoide Degeneration lymphoider Zellen.

Wenn man Trockenpräparate vom Kaninchenmark in der Weise herstellt, wie es Benacchio (1) getan hat und wie ich es nachgeprüft habe, nämlich zuerst ein kleines Stückchen davon in einem Tropfen physiologischer Kochsalzlösung auf dem Deckgläschen mit dem Messer haschiert, mit der Kante eines anderen Deckgläschens darüberstreicht und das ganze dann trocknen lässt, um es nachträglich noch mit wässrigen Farblösungen zu bearbeiten, dann bekommt man im Präparat allerdings keine Mastzellen mehr — aus dem einfachen Grund, weil ihre Granula dabei alle zerstört und aufgelöst werden. Übrigens sehen dabei auch die meisten übrigen Zellen stark lädiert aus. Ein grosser Teil von ihnen ist zerstört und die freigewordenen eosinophilen und pseudoeosinophilen Granula bedecken das ganze Gesichtsfeld. Wenn

man aber ein gewöhnliches Trockenpräparat auf etwas schonendere Art und Weise, nämlich einfach durch Berühren des Glases mit einer frischen Schnittfläche des Markgewebes herstellt und es in der gewöhnlichen Weise mit MGr und Giemsa nach Pappenheim färbt, so erblickt man trotz dieses im gegebenen Falle ganz unzweckmässigen Verfahrens doch viele Zellen mit dunkelrotvioletten Körnern, die sich ganz scharf von den pseudoeosinophilen und eosinophilen unterscheiden und unbedingt als spezifische basophile Granula angesprochen werden müssen. Für genauere Feststellungen, für zytologische Untersuchungen, sind Trockenpräparate, wie gesagt, unbrauchbar, zumal gerade beim Kaninchen dabei ein grosser Teil der basophilen Körner aufgelöst wird. Man sieht an ihnen aber doch, dass es auch hier besondere basophile Granulozyten geben muss. Die wirkliche Menge der letzteren, ihre richtige Struktur und ihre Beziehungen zu den anderen Zellen können an feuchtfixierten A-Präparaten ohne jede Mühe klargestellt werden.

An A Th-Präparaten findet man im Kaninchenknochenmark sehr zahlreiche Zellen, die, ebenso wie beim Menschen, schon bei schwacher Vergrösserung sofort in die Augen fallen, dank der grellrotviolett gefärbten Körnung, die sie in ihrem Protoplasma führen.

Zum Teil sind es dieselben polymorphkernigen Mastlenkozyten, die ich soeben im Blute beschrieben habe (Fig. 40, 41). Die meisten stellen aber rund- oder kompaktkernige Zellen vor (Fig. 33—38).

Ihre Grösse ist verschieden. Die meisten haben den Umfang von grossen Lymphozyten (Fig. 33, 35, 36); andere sehen wie kleine Lymphozyten aus, ausserdem gibt es Mittelformen (Fig. 34). Der Kern ist rund, oval, leicht nierenförmig, oder einseitig scharf eingekerbt und gefaltet; in seinem Inneren sieht man ein unregelmässiges, ziemlich helles Gerüst mit kleinen eckigen Chromatinteilchen. Die Nukleolen treten nach ATh nicht deutlich hervor.

Die Granula befinden sich im Protoplasma dieser grossen oder kleinen Zellen in sehr verschiedener Menge; in den einen Fällen sehr spärlich (Fig. 33, 34), stellen sie in anderen eine dichte Masse vor (Fig. 35, 36, 38). Bei ihrem ersten Auftreten in der Zelle bilden die Körnchen, ebenso wie beim Menschen, kaum

sichtbare Spuren, später entsteht ein kleines, einseitig gelegenes Häufchen, im folgenden wächst ihre Zahl und sie verteilen sich über weitere Plasmabezirke, doch bleibt die Verteilung (im Gegensatz zu den Gewebsmastzellen) immer ungleichmässig und meistens ausgesprochen einseitig. Was die Grösse der Granula betrifft, so treten sie zuerst in Form feinsten Pünktchen auf (Fig. 34), um dann rasch die definitive, ziemlich gleichmässige Grösse zu erreichen. Zellen mit einzelnen aussergewöhnlich groben Körnchen sind selten (Fig. 36).

Von den geschilderten, meistens grossen rundkernigen Zellen, in deren Protoplasma basophile Granula ausgearbeitet werden, gibt es eine ununterbrochene Reihe fliessender Übergangsformen zu den oben beschriebenen reifen polymorphkernigen Mastleukozyten, in deren Zelleib die Körner schon in dichten Massen liegen (Fig. 39—41). Diese Übergangsformen zeigen eine immer stärker und stärker hervortretende Kernzerschnürung.

Bei Färbung der mit Alkohol feucht fixierten Deckglaspräparate mit MGr in der oben angegebenen Weise bekommt man von den beschriebenen Blutmastzellen ganz ähnliche Bilder, wie beim Menschen bei derselben Methode — ebenfalls äusserst scharf hervortretende, dunkelblauviolette Körnchen und blasshimmelblaue Kerne. Da hier die pseudoeosinophilen und eosinophilen Granula rot gefärbt aussehen, offenbart sich der streng spezifische Charakter der basophilen Körnung in noch deutlicherer Weise.

An mit ZFEAz bearbeiteten Deckglaspräparaten wechseln die Resultate von Fall zu Fall, wahrscheinlich je nach der Dauer der Fixierung usw. In dem einen Fall sind hier die meisten Granula aufgelöst und unsichtbar, in dem anderen sind sie deutlich erhalten und violett gefärbt.

Die beschriebenen basophil granulierten Zellen im Kaninchenmark sind mir seit langer Zeit bekannt und ich habe sie auch schon mehrmals beschrieben, ihre Entwicklung, selbst die embryonale, studiert und ihre Beziehungen zu den im Blute kreisenden Mastleukozyten erörtert. Leider scheinen aber diese meine Angaben, wie gesagt, wenig beachtet worden zu sein; bei Benacchio (1) finde ich sie z. B. überhaupt nicht erwähnt und doch glaube ich, dass es für des genannten Autors eigene Auffassung der Blutmastzellenfrage sehr vorteilhaft gewesen wäre.

wenn er sie gekannt hätte und in der Lage gewesen wäre, seine negativen Resultate mit den meinigen positiven zu vergleichen. Vielleicht würde er dann nicht in so apodiktischer Weise verkündet haben, dass es im Kaninchenknochenmark keine Mastmyelozyten und überhaupt keine Mastzellen gibt. Denn was sind die beschriebenen Zellen in Wirklichkeit anders als Mastzellen und die rundkernigen unter ihnen anders als Mastmyelozyten?

Benacchio findet in seinen Präparaten basophil gekörnte Zellen, hält sie aber bloss für Jugendformen der eosinophilen und pseudoeosinophilen Myelozyten. Es soll ein allmählicher Übergang der basophilen Granula in oxyphile, eine Reifung mit Verlust der primitiven Basophilie zu konstatieren sein. Andererseits sollen Übergänge der grobkörnigen, einkernigen, angeblichen Mastmyelozyten zu polynukleären Mastleukozyten fehlen. Drittens sollen wichtige färberische und sonstige Differenzen zwischen den basophil granulierten Zellen und wahren Mastzellen bestehen.

Diese drei Feststellungen sollen etwas näher geprüft werden.

Dass eosinophile und pseudoeosinophile Körnchen in den jüngsten entsprechenden Myelozyten eine basophile Quote enthalten, ist eine sehr alte Erfahrung und ebenso ist es längst bekannt, dass dies gerade beim Kaninchen besonders deutlich hervortritt. Darüber haben Pappenheim, ich, Blumenthal und andere schon oft berichtet. Speziell findet man hier in den jüngsten pseudoeosinophilen Myelozyten noch eine besondere, ziemlich reichliche (vielleicht der Azurkörnung nahestehende) primitive Granulation, die mit der Ausreifung der Spezialkörnung allmählich verschwindet (Blumenthal, Maximow). Sie tritt an ATh-Schnittpräparaten vom Mark meistens sehr deutlich hervor, an ATh-Deckglaspräparaten ist sie weniger deutlich.

Haben aber diese basophilen primitiven Vorkörnungen etwas zu tun mit der Mastzellenkörnung? Schon die flüchtigste Untersuchung eines beliebigen Präparates, wo ausser den eosinophilen und pseudoeosinophilen Körnern auch die Mastzellenkörnung fixiert und gefärbt, also sichtbar ist, lässt uns diese Frage mit einem entschiedenen Nein beantworten.

Die pseudoeosinophilen Granula des Kaninchens erscheinen in ihrem Jugendstadium an ATh-Deckglaspräparaten nur ganz blass tingiert und erinnern sehr an die neutrophile Körnung der

Myelozyten des Menschen. Die eosinophilen Granula, die sonst grün gefärbt erscheinen, nehmen in ihrem jüngsten Zustand einen deutlichen blauen Ton an; von diesen blauen, aber niemals metachromatischen Körnern sieht man in ein und derselben Zelle alle Übergänge zu den reifen, grünen (Fig. 42).

Die oben beschriebene Mastkörnung hat aber nicht die entfernteste Ähnlichkeit mit diesen Jugendformen der beiden anderen Granulaarten. Metachromatisch-basophile Granula kommen speziell in den eosinophilen Myelozyten niemals vor. Umgekehrt habe ich auch niemals eine Mastzelle gesehen, in welcher man Körnchen vom Aussehen der pseudoeosinophilen oder eosinophilen finden könnte. Die Mastgranula treten nur in vorher granulalosen lymphoiden Zellen und zwar sofort mit allen ihren typischen spezifischen Eigenschaften ausgestattet auf und nehmen dann nur an Zahl zu, bis Mastmyelozyten mit reichlicher Körnung entstehen. Dass Benacchio in seinen Präparaten echte Mastzellen nicht sah, sondern bloss die basophilen Primitivstadien der eosinophilen und pseudoeosinophilen Elemente, will ich ihm gerne glauben; der Grund dafür lag aber in seiner Methodik.

Wie beim Menschen, so findet man also auch beim Kaninchen und in noch viel grösserer Menge im Mark eine besondere Zellart mit einer ganz spezifischen, ihr allein zukommenden, basophil-metachromatisch reagierenden Körnung, die der eosinophilen und pseudoeosinophilen vollkommen ebenbürtig erscheint, von ihnen aber ganz unabhängig ist.

Da Benacchio, wie gesagt, die echten Mastzellen in seinen Präparaten zum grössten Teil sicher selbst zerstörte, kann es nicht wundernehmen, dass er keine Übergänge von den Mastmyelozyten zu polymorphkernigen Mastleukozyten findet. In Wirklichkeit ist aber gerade das Kaninchenmark das günstigste Objekt zur Demonstrierung der ganzen Entwicklungsreihe von den einkernigen, jungen, mit Spuren von Mastkörnung versehenen Mastmyelozyten bis zum dicht granulierten polymorphkernigen reifen Mastleukozyt. Dies ist in der Wissenschaft sogar schon lange vor Erscheinen der Arbeiten von Benacchio und Kardos bekannt gewesen.

Wenn wir jetzt die angeblichen prinzipiellen Differenzen zwischen den basophil granulierten Zellen des Kaninchenmarks und den wahren Mastzellen prüfen, so erweist sich auch in dieser

Beziehung die Beweisführung Benacchios als vollständig unzutreffend. Er zählt sechs „Kriterien“ auf, die angeblich für die Erkennung der richtigen Mastzellenkörner feststehen sollen. Unter ihnen legt er den stärksten Nachdruck auf die Unfähigkeit dieser letzteren sich mit sauren Farbstoffen zu färben, auf ihre strenge Monobasophilie. Da nun die in seinen Präparaten vom Kaninchenknochenmark vorhandenen basophilen Körner sich auch mit dem Indulin des Triglyzeringemisches tingieren liessen, so konnten sie eben deswegen keine Mastzellen sein.

Wie ich bereits bewiesen zu haben glaube, konnten in den Präparaten von Benacchio die echten Mastzellenkörner überhaupt nicht erhalten geblieben sein, sondern sie waren sicherlich zum grössten Teil aufgelöst. Folglich kann man es auch ruhig zugeben, dass in der Tat die übrig gebliebenen basophilen Granula bloss Jugendformen der eosinophilen oder pseudoeosinophilen Körner waren und als solche auch indulinophil reagierten. Die echten Mastgranula im Kaninchenmark färben sich nicht mit Indulin. Aber selbst abgesehen davon, selbst zugegeben, dass sie sich mit Indulin färben würden, halte ich es überhaupt nicht für statthaft, den Begriff der Mastzellen so willkürlich einzuschränken, wie es Benacchio tut und die Mastzellennatur irgendwelcher mit metachromatisch-basophil reagierenden Körnern versehenen Zellen nur deswegen zu leugnen, weil diese Körner sich einigen speziellen, ganz willkürlich ausgewählten Reaktionen gegenüber, die an den Körnern anderer Mastzellen gelingen, ablehnend verhalten. Als Mastzelle hat ja Ehrlich eine Zelle bezeichnet, die im Protoplasma als ständige und ausschliessliche Einschlüsse metachromatisch-basophile Körner führt. Wenn man im myeloiden Gewebe Zellen findet, die dieser einzigen Bedingung genügen und dabei von den anderen zwei bekannten Granulozytenarten vollkommen unabhängig sind, so müssen sie eben notwendigerweise als Mastzellen bezeichnet werden, ob die von Benacchio angegebenen Kriterien, wie z. B. Nichtfärbbarkeit in Methylgrün, Färbbarkeit in Rhodamin-S, Grobkörnigkeit usw. zu ihnen passen oder nicht.

Wie für die Mastmyelozyten im Knochenmark des Menschen, so muss jetzt endlich auch für dieselben Zellen beim Kaninchen der Regenerationsmodus festgestellt werden. Dass sie in der gleichen Weise wie beim Menschen auf heteroplastische Weise

fortwährend neu entstehen, durch Ausarbeitung der spezifischen Granula in vorher ungranulierten, lymphoiden Zellen, ist auf Grund der beschriebenen Bilder eine sichergestellte Tatsache. Was es für lymphoide Zellen sind, die sich auf solche Weise in Mastmyelozyten verwandeln, ist wieder eine Frage für sich, die vorläufig von verschiedenen Autoren je nach ihrem mono- oder polyphyletischen Standpunkte in verschiedenem Sinne entschieden worden wäre. Aber ausserdem regenerieren sich die Mastmyelozyten auch auf homoplastischem Wege, durch karyokinetische Zellteilung in bereits körnchenreichem Zustande. Wenn die Mastmyelozytenmitosen beim Menschen eine Seltenheit waren, so sind sie im Kaninchenknochenmark, entsprechend der grösseren Zahl der Blutmastzellen, viel zahlreicher und ziemlich leicht zu finden (Fig. 37). Ich habe übrigens, wie gesagt, Mastmyelozytenmitosen beim Kaninchen schon früher ausführlich beschrieben und abgebildet (12).

Von einer degenerativen mukoiden Verwandlung lymphozytoider Zellen im zirkulierenden Blut zu Mastleukozyten kann folglich keine Rede sein. Auch beim Kaninchen sind die Mastleukozyten eine echte spezifische Granulozytenart, die sich in gewöhnlicher Weise im Knochenmark aus besonderen Myelozyten entwickelt.

Im banalen Bindegewebe des Kaninchens sind, wie ich es seinerzeit beschrieben habe (11), histiogene Mastzellen im allgemeinen recht spärlich. Kein Wunder also, dass sie im Knochenmark noch viel seltener sind. Immerhin habe ich auch hier ein paar solche Zellen doch konstatieren können. Sie sehen, wie die Fig. 43 zeigt, ganz anders aus, als die Blutmastzellen und können mit ihnen nicht verwechselt werden. In den histiogenen Mastzellen ist die Körnung weniger regelmässig verteilt und die Körnchen sind von ziemlich verschiedener Grösse. Hier herrschen also in dieser Beziehung im Vergleich mit dem Menschen gerade umgekehrte Verhältnisse.

Meerschweinchen.

Blut.

Im Blute des Meerschweinchens sind Mastleukozyten längst bekannt und von Jolly (6, 7), mir (11, 14) und Weidenreich (21, 22) in ganz entsprechender Weise beschrieben worden.

Hier werden sie auch von Weidenreich als spezifische, echte Granulozyten anerkannt. Der Kern ist polymorph zerschnürt (Fig. 47) und besteht meistens aus drei rundlichen Abschnitten, die miteinander durch dünne, manchmal fadenförmige Brücken zusammenhängen. In seinem Inneren tritt ein deutlich entwickeltes netzartiges Gerüst hervor. Die Granula haben beim Meerschweinchen ein sehr typisches Aussehen — sie sind sehr gross, selbst grösser als die eosinophilen Körner, von ovaler Form, schwach lichtbrechend und färben sich an ATh-Präparaten nicht so dunkelrotviolett, wie bei den anderen Tieren, sondern in einem helleren, braunvioletten Ton; an AMGr-Präparaten erscheinen sie blassblauviolett. Die von Weidenreich beschriebenen Zentralkörper kann man an solchen Präparaten natürlich nicht sehen. Eine sehr wichtige Eigenschaft der Granula der Mastleukozyten beim Meerschweinchen ist ihre relativ sehr geringe Wasserlöslichkeit. Dadurch wird es ermöglicht, sie auch an Präparaten darzustellen, die mit wässerigen Fixierungsmitteln oder Farblösungen bearbeitet worden sind.

Die Gewebsmastzellen des Meerschweinchens sind von mir früher genauer beschrieben worden. Sie haben gar keine Ähnlichkeit mit den Blutmastzellen und wenn sie schon bei den meisten anderen Tieren von diesen letzteren stets scharf unterschieden werden können, so steigert sich dieser Unterschied gerade beim Meerschweinchen bis zum höchsten Grade.

Knochenmark.

Im Knochenmark des Meerschweinchens sind die Blutmastzellen ungefähr ebenso zahlreich, wie beim Kaninchen. Dank der ganz besonderen, von der gewöhnlichen abweichenden Beschaffenheit ihrer Granula, besonders dank der Widerstandsfähigkeit derselben den wässerigen Lösungen gegenüber, bietet ihr Studium hier gar keine Schwierigkeiten dar. Sie sind hier nicht nur nach ATh oder AMGr, sondern auch nach ZF-Fixierung und EAz-Färbung und sogar an gewöhnlichen, nach Pappenheim mit MGr und Giemsa gefärbten Trockenpräparaten sofort zu erkennen und unterscheiden sich so ausserordentlich scharf von den übrigen Granulozyten, dass es mir ganz unverständlich vorkommt, wie Benacchio und Kardos gerade beim Meerschweinchen ihre Existenz vollständig leugnen können.

Ihre Färbung nach *ATH* und *AMGr* habe ich bereits erwähnt. Nach *ZFEAz* sind sie ebenso blassblauviolett, wie nach *AMGr*. An trockenen, nach *Pappenheim* gefärbten Präparaten haben sie einen sehr schönen, saftigen rotvioletten Ton.

Die meisten Blutmastzellen im Mark haben dicke, wurstförmige, verschiedenartig geknickte, verbogene Kerne, die etwa dem Typus der sogenannten Metamyelozyten entsprechen. Überall sieht man diese Kerne sich in die noch mehr zerschnürten der reifen, ins Blut übertretenden Mastleukozyten verwandeln.

Die übrigen stellen meistens sehr grosse Zellen mit rundem oder ovalem oder nierenförmigem, fast immer exzentrischem Kerne vor (Fig. 44—46) — dies sind die schon längst von *Jolly* und mir beschriebenen Mastmyelozyten; mit den erwähnten Mastmetamyelozyten sind sie ebenfalls durch alle möglichen Übergänge verbunden. Sie enthalten eine wechselnde Anzahl von Körnern. Man findet Zellen mit eben erst beginnender Ausarbeitung der Granulation (Fig. 44) — in dem blassen Protoplasma erscheinen zuerst feinste runde Körnchen, dann wachsen sie bedeutend an und nehmen dabei zum Teil sofort, zum Teil erst später eine ovale Form an. Ihre typischen, oben angegebenen Farbreaktionen sind jedoch von Anfang an vorhanden, so dass die Substanz der Körnchen selbst keiner Reifung unterliegt, ebenso wie wir es auch beim Menschen und beim Kaninchen gesehen haben. Indem sich die Zahl der Granula allmählich vergrössert und die einzelnen Körner an Umfang gewinnen, erhält man schliesslich grosse, oft riesige Myelozyten mit umfangreichem, fein netzartig gebautem, exzentrisch gelegenen Kern und mit reichlichen, grossen, runden oder ovalen Körnchen im breiten Protoplasmasaum (Fig. 45).

Mit der pseudoeosinophilen (amphophilen) und eosinophilen Körnung haben die beschriebenen Mastgranula nichts zu schaffen. Die Blutmastzellen sind von den anderen Granulozyten aufs schärfste schon vom ersten Auftreten der Granula an geschieden. Die basophilen Jugendformen der eosinophilen und speziellen Körnchen haben auch beim Meerschweinchen ein ganz anderes Aussehen und von ihnen ist dasselbe zu sagen, was ich oben für das Kaninchen angegeben habe. Ich betone noch einmal, dass dies beim Meerschweinchen in der schönsten Weise sogar an den gewöhnlichen, nach *Pappenheim* gefärbten Trockenpräparaten

hervortritt. Zwischen den Blutmastzellen mit ihren groben Körnern und den anderen Granulozyten fehlen Übergangsformen vollständig. Eher hätte man hier in den Trockenpräparaten die tief rotviolett gefärbten Mastzellengranula noch mit den in allen lymphoiden Zellen reichlich vorhandenen Azurkörnern verwechseln oder in genetische Beziehungen bringen können. Aber die Azurgranula sind fein, staubförmig und purpurfarben, während die Mastzellengranula sich schon gleich bei ihrem ersten Auftreten in der Zelle durch ihre Grobkörnigkeit und die dunklere rotviolette Färbung verraten. An den feucht fixierten Präparaten, wo die Azurkörnung fehlt, fällt auch dieser komplizierende Umstand weg.

Mitosen sind in den Mastmyelozyten beim Meerschweinchen eine noch gewöhnlichere Erscheinung als beim Kaninchen. Man findet sie meistens in den grossen Zellen, deren Protoplasma mit den spezifischen Körnern schon dicht erfüllt ist (Fig. 46). Diese Mitosen sind auch schon von Jolly (6, 7) gesehen worden.

Histiogene Mastzellen habe ich im Meerschweinchenmark früher (11) gar nicht finden können. Jetzt, bei sorgfältigster Durchmusterung neuer zahlreicher Präparate, finde ich sie doch, zwar sehr selten, aber immerhin in jedem Deckglaspräparat ein paar: sie sind, wie gesagt, in ihrem Aussehen und speziell in ihrer Körnung von den beschriebenen Blutmastzellen so grundverschieden, dass eine Verwechslung der beiden Arten nicht möglich ist. An ATh-Präparaten (Fig. 48) erscheinen sie als ziemlich unregelmässig begrenzte, oft in die Länge gezogene Zellen, deren Grösse stark variiert, dem Umfang der grössten Mastmyelozyten aber meistens nachsteht. Das Protoplasma ist durch und durch aufs dichteste mit sehr feinen, runden Körnern erfüllt, die eine kräftig rotviolette, metachromatische Färbung besitzen und viel greller und dunkler gefärbt erscheinen, als die groben Granula der Blutmastzellen. Der rundliche oder ovale Kern liegt meistens exzentrisch, ist hell und enthält in seinem Inneren mehrere eckige Chromatinteilchen. Mitosen habe ich in diesen Gewebsmastzellen im Mark nicht gefunden, ebenso habe ich auch granulaarme Jugendformen derselben nicht mit Sicherheit konstatieren können; es kommen wohl Exemplare vor, die um den runden Kern herum einen nur schmalen Plasmasaum aufweisen, dieser letztere erscheint jedoch immer schon mit Körnern dicht erfüllt.

Auch beim Meerschweinchen kann man folglich im Knochenmark zwei Mastzellenarten unterscheiden. Die eine entspricht in jeder Beziehung den banalen ubiquitären Mastzellen des Bindegewebes, die andere stellt eine besondere, spezifische Granulozytenart vor und bietet eine ununterbrochene progressive Entwicklungsreihe dar von jungen, noch granulaarmen, aus lymphoiden Elementen eben erst entstandenen Mastmyelozytenformen bis zu reifen, polymorphkernigen Mastleukozyten, die ins Blut abgegeben werden.

Weisse Ratte.

Wie ich schon früher angegeben habe (11) und auch jetzt bestätigen kann, gelingt es im Rattenblut an ATh-Deckglaspräparaten nicht, Mastleukozyten zu finden. Im Knochenmark sieht man basophil gekörnte Zellen in grossen Mengen, das sind aber fast sämtlich Elemente, die in allen Beziehungen, ausser der Grösse, den banalen Gewebsmastzellen, wie man sie überall im Bindegewebe der Ratte findet, entsprechen. Sie sind von sehr verschiedener Grösse (Fig. 50, 51), das Protoplasma ist aber stets aufs dichteste mit groben, dunkelrotvioletten Körnchen erfüllt, die so nahe beisammen liegen, dass der ganze Zellkörper meistens den Eindruck einer dunklen, ganz undurchsichtigen körnigen Kugel macht, an deren Peripherie der halbkugelförmige Kern einseitig hervorragt. In den kleineren Exemplaren (Fig. 50) scheint die Anordnung der Körner mitunter etwas lockerer zu sein. Der Kern nimmt jedenfalls immer eine ausgesprochene exzentrische periphere Lage ein.

Nun findet man aber im Mark ausser diesen unzweifelhaften Gewebsmastzellen, wie man ganz ähnliche auch z. B. in den Lymphknoten und in der Peritonealflüssigkeit hat, auch noch andere Mastzellen, die sofort den Eindruck von hamatogenen machen — es sind grössere und kleinere Zellen (Fig. 51, 52), mit blassem rundem Kern und mit mehr oder weniger zahlreichen, nicht sehr dicht gelagerten Körnchen, die feiner sind als in den Gewebsmastzellen und heller rotviolett gefärbt erscheinen. Ausserst selten trifft man Übergänge von solchen Mastmyelozyten zu polymorphkernigen Zellen mit denselben Körnchen, die folglich als Mastleukozyten bezeichnet werden können. Bei der Ratte, bei welcher die Gewebsmastzellen überall so ausserordentlich zahlreich und stark entwickelt erscheinen, sind also Blutmastzellen

eine äusserst seltene Erscheinung. Jedenfalls sind sie aber auch hier vollkommen unabhängig von den anderen Granulozyten. Was hingegen ihre Beziehungen zu den Gewebsmastzellen betrifft, so muss zugegeben werden, dass mitunter Zellen vorkommen, die man nicht mit Sicherheit dem einen oder dem anderen Typus der Mastzellen zurechnen kann (Fig. 53, 54). Ob dies als Beweis einer tatsächlichen Zusammengehörigkeit beider Typen im Sinne der Entwicklung aus einer gemeinsamen primitiven Stammform aufgefasst werden kann, wage ich nicht zu entscheiden.

Hund.

Im Blute des erwachsenen Hundes habe ich schon früher (11) spärliche typische polymorphkernige Mastleukozyten beschrieben. Im Blute eines 2 Monate alten Hündchens, welches ich jetzt untersucht habe, vermisste ich sie, dies wird jedoch vermutlich nur von der grossen Seltenheit dieser Zellart hier abhängen. Im Knochenmark fehlen Gewebsmastzellen vollständig, wenigstens an Deckglaspräparaten, es sind aber stets in wechselnder, meist spärlicher Anzahl basophil gekörnte Elemente zu finden, die ganz den Eindruck von Blutmastzellen machen und denselben Zellen beim Kaninchen besonders ähnlich aussehen; sie sind jedoch beim Hunde viel spärlicher vertreten. Auch hier haben sie jedenfalls nichts zu tun mit den eosinophilen und speziellen Granulozyten. Sie stellen zum Teil grosse oder kleinere Mastmyelozyten vor (Fig. 55, 56), mit spärlicher oder reichlicher Körnung, zum Teil sind es typische kleine, reife, polymorphkernige Mastleukozyten (Fig. 57, 58); die Körnung ist sehr fein, gleichmässig und färbt sich in einem besonders hellen Rotviolett. Sie bildet meistens ein kleines, scharf begrenztes, dichtes Häufchen an der einen Seite des Kernes; wenn der Kern eine tiefe einseitige Einschnürung erhält, kommt das Häufchen gerade in die Einbuchtung desselben zu liegen (Fig. 58), oder es umgibt den Kern gürtelförmig (Fig. 57). Zwischen den Mastmyelozyten und den Mastleukozyten findet man eine ununterbrochene Reihe von Übergangsformen.

Schluss.

Die Schlußsätze der vorliegenden Arbeit müssen als Antwort auf die oben formulierten Fragen erscheinen.

1. Bei den Säugetieren gibt es zwei Arten von Mastzellen, histiogene und hämatogene, Gewebsmastzellen und Blutmastzellen.

Obwohl den beiden Typen als die am meisten charakteristische Eigenschaft metachromatisch-basophile Granula im Protoplasma eigen sind, müssen sie im erwachsenen Organismus voneinander doch auf Grund einer ganzen Reihe von bestimmten Merkmalen scharf unterschieden werden; diese Merkmale beziehen sich auf Grösse, Form, Kernbeschaffenheit, den spezielleren Charakter der Körnung und auf die Entwicklungsart selbst. Je nach der Tierart bietet jeder Typus wiederum Verschiedenheiten dar, sowohl was histologisches Aussehen und Charakter der Körnung, als auch die Häufigkeit und Verteilung im Organismus betrifft. Bei jeder einzelnen Tierart aber ist eine weitere Teilung der zwei Typen unzulässig und speziell kann man unter den Gewebsmastzellen keine besonderen Unterarten unterscheiden.

Wie alle gekörnten Zellen des Blutes und Bindegewebes entstehen auch die Mastzellen beider Typen ursprünglich, beim Embryo, immer aus indifferenten lymphozytoiden Vorstufen. Wie dies im Speziellen geschieht, ob die beiden Typen zuerst eine gemeinsame primitive, granuliert Stammform haben oder gleich als isolierte Zellstämme entstehen, erscheint noch nicht genügend aufgeklärt. Obwohl ich selbst darüber schon früher einiges berichtet habe (11, S. 706, 13, S. 624, 14, S. 63), sind meine diesbezüglichen embryologischen Arbeiten vorläufig noch nicht abgeschlossen, dem früher Gesagten habe ich nichts hinzuzufügen und ich enthalte mich infolgedessen eines endgültigen Urteils in dieser Beziehung. Jedenfalls stellen aber die beiden Mastzellenarten im erwachsenen Organismus zwei ganz unabhängige Zellstämme vor, die in keinen genetischen Beziehungen mehr zueinander stehen; auch ist eine gemeinsame Stammzelle für die beiden hier nicht vorhanden. Nur bei der Ratte findet man im Knochenmark etwas zweifelhafte Zwischenformen zwischen jungen Gewebsmastzellen und Mastmyelozyten. Bei allen anderen untersuchten Tieren springen die jeweiligen von Art zu Art verschiedenen Unterschiede der beiden Zellarten schon in deren jüngstem Zustande an in zweckmässiger Weise hergestellten Präparaten so deutlich in die Augen, dass es darüber keine geteilte Meinung geben kann. Gerade das Knochenmark ist für diese Feststellung besonders günstig, weil hier bei den meisten Tieren sowohl Gewebsmastzellen als auch Blutmastzellen in verschiedenen Entwicklungsstadien dicht nebeneinander gelagert zu finden sind.

Was hingegen die niederen Wirbeltiere betrifft, speziell die urodelen Amphibien, so liegt hier die Sache wahrscheinlich etwas anders. Hier scheinen viel engere Beziehungen zwischen den histiogenen und hämatogenen Mastzellen auch im erwachsenen Organismus zu bestehen; ich habe seinerzeit Beobachtungen mitgeteilt (10), nach welchen sich beim Axolotl ausgewanderte Mastleukozyten in fixe Gewebsmastzellen verwandeln; auch Weidenreich (22) vertritt dieselbe Meinung und identifiziert sogar bei den Amphibien die beiden Mastzellenarten miteinander.

2. Je nach der Tierart bieten die Blutmastzellen gewisse bestimmte Verschiedenheiten dar. Es wäre also verfehlt, sich auf eine angebliche absolute, artspezifische Unterschiede ausschliessende Gleichartigkeit der Blutmastzellen bei allen Tierklassen zu berufen (Pappenheim), um ihren Charakter als mukoid degenerierter Lymphozyten zu beweisen. Andererseits ist es jedoch sicher, dass sich diese Verschiedenheiten bloss auf nebensächliche, äussere Merkmale beziehen und dass es auf Grund derselben nicht möglich ist, verschiedene Typen von Mastleukozyten zu unterscheiden. Die biologischen Grundeigenschaften und die morphologische Bedeutung der Mastleukozyten bei verschiedenen Säugetieren und beim Menschen sind überall gleich.

3. Beim Vergleich der Blutmastzellen mit den anderen Granulozytenarten des Blutes stellt es sich heraus — wieder vorausgesetzt, dass zweckmässige, die Mastkörnung nicht alterierende Methoden angewandt werden — dass sie von allen anderen körnigen Zellen vollständig scharf geschieden sind. Sie haben nichts zu tun weder mit Spezialgranulozyten, noch mit den eosinophilen Zellen und stehen mit ihnen in keinerlei genetischem Zusammenhang, ausser der prinzipiell ja ganz ähnlichen Entstehung aus vermutlich gleichartigen indifferenten lymphoiden Elementen.

Die Blutmastzellen sind beim Menschen und allen untersuchten Säugetieren, entsprechend der ursprünglichen Ehrlichen Anschauung, eine besondere Granulozytenart mit ganz selbständiger Entwicklung und spezifischer, ihr allein eigener, basophil-metachromatischer, als Sekretionsprodukt des Protoplasmas aufzufassender Körnung; diese Granulozytenart steht den beiden anderen Granulozytenarten vollkommen ebenbürtig zur Seite. Ebenso wie die eosinophilen oder spezialgranulierten Leukozyten, besitzen auch die Mastleukozyten im Knochenmark

eine besondere Jugendform, echte, wucherungsfähige Mastmyelozyten, die auch im erwachsenen Organismus heteroplastisch durch Ausarbeitung der spezifischen Körnung im Plasma aus indifferenten lymphoiden Zellen neu entstehen können. Aus diesen Mastmyelozyten gehen in der gewöhnlichen Weise, unter Anhäufung der Körner und progressierender Kernpolymorphose, die reifen Mastleukozyten hervor, die in das Blut übertreten, während die Mastmyelozyten normalerweise sämtlich im Knochenmark verbleiben.

Die Annahme von Benacchio, Kardos, Pappenheim und Szécsi, dass echte Mastmyelozyten beim Kaninchen und Meerschweinchen im Knochenmark fehlen und dass die dort vorhandenen basophil gekörnten Zellen bloss unreife eosinophile oder pseudoeosinophile Myelozyten sind, deren Körnung noch eine bedeutende basophile Quote enthält, entspricht nicht den Tatsachen. In Präparaten, wo die Mastkörnung ungelöst erhalten geblieben ist und zweckmässig gefärbt erscheint, fehlen Übergangsformen zwischen ihr und den anderen Granulaarten.

4. Aus dem Angeführten folgt weiter, dass die Blutmastzellen, die Mastleukozyten und Mastmyelozyten, nirgends, bei keiner von den untersuchten Säugerarten als degenerierende Elemente angesehen werden können. Gewiss ist es sehr wohl möglich, dass bei Degeneration verschiedener Zellen in deren Protoplasma ein metachromatisch-basophil reagierendes Zerfallsprodukt in Granuliform auftreten kann. Es gibt sogar in der Literatur einige entsprechende Angaben (9). Solche Zellen wären indessen jedenfalls nicht als Mastzellen zu bezeichnen, ebenso, wie es nicht angeht, pigmentierte atrophische Zellen Pigmentzellen zu nennen.

Die Mastleukozyten entstehen nicht im zirkulierenden Blut durch besondere degenerative Veränderung der Lymphozyten, sondern im Knochenmark, aus besonderen Mastmyelozyten. In ihrem reifen Zustande, als Mastleukozyten, sind sie der Wucherung gewiss nicht mehr fähig — diese Eigenschaft teilen sie mit den anderen beiden Arten der reifen granulierten Leukozyten. Normalerweise können an ihnen Anzeichen von Degeneration niemals konstatiert werden; die von vielen Autoren beschriebenen Vakuolen und dergleichen stellen Kunstprodukte vor. Ihre Jugendformen, die Mastmyelozyten, sind, ebenso wie die eosinophilen und spezialgranulierten Myelozyten, wucherungsfähige Zellen, wie Mitosen in ihnen beweisen.

Literaturverzeichnis.

1. Benacchio, Giovanni Battista: Gibt es bei Meerschweinchen und Kaninchen Mastmyelozyten und stammen die basophilgekörnten Blutmastzellen aus dem Knochenmark? Fol. hämat., I. Teil: Archiv, Bd. XI, H. 2, 1911.
2. v. Decastello und Krjukoff, A.: Untersuchungen über die Struktur der Blutzellen. Wien, Urban & Schwarzenberg, 1911.
3. Ehrlich: Farbenanalytische Untersuchungen zur Histologie und Klinik des Blutes. Berlin 1891.
4. Ehrlich und Lazarus: Die Anaemie. Wien, Hölder, 1898.
- 4a. Ferrata: Morfologia del sangue normale e patologico. Milano 1912.
5. Ferrata e Golinelli: Sui leucociti a granulazioni basofile. Folia clinica, chimica e microscopica, 1910.
6. Jolly: Recherches sur la division indirecte des cellules lymphatiques etc. Archives d'Anat. microsc., T. 3, 1899—1900.
7. Jolly et Acuna: Les leucocytes du sang chez les embryons des mammifères. Arch. d'Anat. microsc., T. 7, 1905.
8. Kardos: Über die Entstehung der Blutmastzellen aus dem Knochenmark. Fol. hämatol., I. Teil: Archiv, Bd. XI, H. 2, 1911.
9. Maximow: Beiträge zur Histologie der eiterigen Entzündung. Zieglers Beiträge, Bd. 38, 1905.
10. Derselbe: Über entzündliche Bindegewebs-Neubildung beim Axolotl. Zieglers Beiträge, Bd. 39, 1906.
11. Derselbe: Über die Zellformen des lockeren Bindegewebes. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 67, 1906.
12. Derselbe: Experimentelle Untersuchungen zur postfötalen Histogenese des myeloiden Gewebes. Zieglers Beiträge, Bd. 41, 1907.
13. Derselbe: Über die Entwicklung der Blut- und Bindegewebszellen beim Säugetierembryo. Fol. hämat., Bd. IV, 1907.
14. Derselbe: Untersuchungen über Blut und Bindegewebe. III. Die embryonale Histogenese des Knochenmarks der Säugetiere. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 76, 1910.
15. Nägeli: Blutkrankheiten und Blutdiagnostik. Leipzig 1912.
16. Pappenheim: Eine Reihe von Notizen hämatologischen Inhalts in Fol. hämat., Bd. I, 1904.
- 16a. Derselbe: Über Mastzellen. Fol. hämat., Bd. V, 1908.
17. Derselbe: Atlas der menschlichen Blutzellen. Jena 1905—1912.
18. Pappenheim und Szécsi: Hämozytologische Beobachtungen bei experimenteller Saponinvergiftung der Kaninchen. Fol. hämat., I. Teil: Archiv, Bd. XIII, H. 1, 1912.
19. Pröscher: Über experimentelle basophile Leukozytose beim Kaninchen. Fol. hämat., Bd. VII, H. 2, 1909.

20. Türk: Vorlesungen über klinische Hämatologie. Wien, Teil I, 1904, Teil II, 1. Hälfte, 1912.
21. Weidenreich: Zur Kenntnis der Zellen mit basophilen Granulationen im Blut und Bindegewebe. *Fol. hämat.*, Bd. V, 1908.
22. Derselbe: Die Leukozyten und verwandte Zellformen. Wiesbaden 1911.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel XIII und XIV.

Ausführliche Erklärung im Text.

Sämtliche Figuren sind hergestellt worden mit Hilfe des Abbeschen Zeichenapparates, unter Benutzung des Zeiss'schen Apochr. 2,0 mm, Ap. 1,40 und des Kompensationsokulars Nr. 12, auf der Höhe des Objektisches.

Allen Figuren, ausser Fig. 3, 4 und 5, liegen feucht mit Alkohol fixierte und mit alkoholischer Thioninlösung gefärbte Deckglaspräparate zugrunde.

Tafel XIII.

Fig. 1—5. Mastleukozyten aus normalem Menschenblut nach verschiedener Bearbeitung. Fig. 1 und 2 nach ATh; Fig. 3 nach AMGr; Fig. 4 Trockenpräparat, gefärbt mit MGr; Fig. 5 Trockenpräparat, gefärbt nach Pappenheim.

Fig. 6—17. Körnchenarme und körnchenreichere Mastmyelozyten aus dem Knochenmark des Menschen, davon zwei (16 und 17) in Mitose. Fig. 18 und 19. Übergangsformen von Mastmyelozyten zu Mastleukozyten aus dem Knochenmark des Menschen.

Fig. 20—24. Mastleukozyten aus dem Knochenmark des Menschen.

Fig. 25—27. Eosinophile Myelozyten aus dem Knochenmark des Menschen.

Fig. 28 und 29. Neutrophiler Myelozyt und Leukozyt aus dem Knochenmark des Menschen.

Fig. 30—32. Histiogene Mastzellen aus dem Knochenmark des Menschen.

Fig. 33—38. Mastmyelozyten aus dem Knochenmark des Kaninchens, davon eine Zelle (37) in Mitose.

Fig. 39—41. Mastleukozyten aus dem Knochenmark des Kaninchens.

Fig. 42. Eosinophiler Myelozyt aus dem Knochenmark des Kaninchens.

Fig. 43. Histiogene Mastzelle aus dem Knochenmark des Kaninchens.

Tafel XIV.

Fig. 44—46. Mastmyelozyten aus dem Knochenmark des Meerschweinchens, davon einer in Mitose (46).

Fig. 47. Mastleukozyt aus dem Knochenmark des Meerschweinchens.

Fig. 48. Histiogene Mastzelle aus dem Knochenmark des Meerschweinchens.

Fig. 49 und 50. Histiogene Mastzellen aus dem Knochenmark der Ratte.

Fig. 51 und 52. Mastmyelozyten aus dem Knochenmark der Ratte.

Fig. 53 und 54. Zwischenformen (?) aus dem Knochenmark der Ratte.

Fig. 55 und 56. Mastmyelozyten aus dem Knochenmark des Hundes.

Fig. 57 und 58. Mastleukozyten aus dem Knochenmark des Hundes.

Über die Erythrophoren in der Haut der Seearbe, *Mullus L.*, und über das Phänomen der momentanen Ballung und Ausbreitung ihres Pigmentes.

Nach Beobachtungen an der lebenden Zelle.

Von

Professor Dr. med. et phil. E. Ballowitz,

Direktor des Anat. Instituts der Westfälisch. Wilhelms-Universität Münster i. W.

Hierzu Tafel XV und XVI.

Der Farbenwechsel der Seearbe, *Mullus L.*, eines im Mittelmeer sehr verbreiteten und geschätzten Speisefisches, war schon den alten Römern bekannt. Wie Plinius berichtet, war es bei den Römern der Kaiserzeit „während ihrer Gastmähle ein beliebter Zeitvertreib, lebende Exemplare von *Mullus* zu Tisch zu bringen und in warmem Wasser abzutöten, da die Damen sich an dem schönen Farbenspiel, welches die Tiere beim Sterben zeigen, ergötzen“.¹⁾

Auch bei einem kürzlichen Besuche Pompejis sah ich in den dortigen Wandgemälden mehrfach ziemlich naturgetreue Darstellungen von *Mullus* in der charakteristischen roten Verfärbung.

Der Farbenwechsel von *Mullus* besteht darin, dass der Rücken des vorher einfach grünlich und silberfarbig erscheinenden Fisches sich rötlich färbt und an den Seiten grosse, schöne, hellziegelrote, mehr oder weniger zusammenfliessende Flecken und Streifen auftreten.

Um den Farbenwechsel von *Mullus* und dessen Ursachen zu studieren, reiste ich im Frühling des vorigen (1912) und dieses (1913) Jahres an das Mittelmeer. Die Beschaffung des lebensfrischen Untersuchungsmaterials ist trotz der Häufigkeit des Fisches nicht leicht, da die Tiere sehr zart und empfindlich sind, beim Fange meist sterben und nur schwer in der Gefangenschaft

¹⁾ Zitiert nach G. van Rynberk, Über den durch Chromatophoren bedingten Farbenwechsel der Tiere (sog. chromatische Hautfunktion). Ergebnisse der Physiologie, herausgegeben von L. Asher und K. Spiro, V. Jahrgang, Wiesbaden 1906.

einige Zeit am Leben erhalten werden können. Es gelang mir während eines Studienaufenthaltes am Ozeanographischen Institut in Monaco im März und April vorigen Jahres nicht, die erforderliche Anzahl lebender Mulli zu erhalten. Im April dieses Jahres ging ich daher an die Zoologische Station nach Neapel, in welcher mir das gewünschte Untersuchungsmaterial sehr reichlich geliefert wurde. Gerne ergreife ich die Gelegenheit, den Herren der Zoologischen Station, vor allem Herrn Professor Dr. Dohrn, Herrn Dr. Rauther, Herrn Dr. Gross und Herrn Dr. Cerruti für die liebenswürdige Unterstützung, die sie meinen Arbeiten haben zuteil werden lassen, meinen herzlichen Dank auszusprechen.

Die der Abhandlung auf Taf. XV und XVI beigegeführten Abbildungen sind nach dem lebenden Objekt in Neapel gezeichnet worden. Die Herstellung der Zeichnungen wurde dadurch nicht unerheblich erschwert, dass die Chromatophoren, wie wir hören werden, sich ständig und schnell veränderten.

Die sich rot verfärbende Haut von *Mullus* ist, besonders an den Seiten, ziemlich dick und reich an Guanin, infolgedessen wenig durchsichtig und für die Untersuchung des frischen Objektes bei Immersions-Vergrößerung nicht geeignet. Infolgedessen verfiel ich darauf, die dünnen äusseren Wandungen der Schuppentaschen für die Untersuchung zu verwenden. Die dünnen Schuppen sind relativ gross, stecken tief in Schuppentaschen und lassen sich sehr leicht daraus ablösen. Bei der Präparation verfuhr ich folgendermassen. Der lebende Fisch wurde in einem feuchten Tuche an Kopf und Schwanz von einem Assistenten festgehalten. Von dem so fixierten Rücken des Fisches entfernte ich an einer Stelle vorsichtig mit Erhaltung der Schuppentaschen mehrere Schuppen, was sehr leicht ausführbar ist. Alsdann fasste ich mit einer feinen Pinzette die dünne Aussenwand einer Schuppentasche und schnitt sie senkrecht zur Längsachse des Fisches dicht an der Körperoberfläche quer ab. Eine Anzahl solcher abgeschnittener Wandungen kamen in einen Tropfen physiologischer (0,75proz.) Kochsalzlösung, wurden darin schnell ausgebreitet und mit einem Deckgläschen bedeckt, dessen Ränder einen abschliessenden Wachsring erhielten. Das Präparat war alsdann für die Beobachtung hergerichtet und musste sogleich untersucht werden, weil die Chromatophoren darin nur kurze Zeit, 5—15 Minuten, seltener

etwas länger, am Leben blieben. Die abgeschnittenen Wandungen erwiesen sich als ein ganz ausgezeichnetes Studienobjekt, da die Hautstückchen sehr dünn und völlig durchsichtig sind; auch liegen in ihnen die Chromatophoren nur in einer Schicht und isoliert voneinander.

Der für den Versuch benutzte Fisch stirbt gewöhnlich während der Operation. Da sich herausstellte, dass die Chromatophoren sich nach dem Tode des Tieres bald veränderten, musste für eine jede Beobachtung ein neuer lebender Fisch genommen werden.

Untersucht wurden die beiden Arten *Mullus barbatus* L. und *M. surmuletus* L. Da ihre Erythrophoren sich nicht voneinander unterscheiden, ist in der folgenden Beschreibung auch kein Unterschied zwischen den Farbzellen der beiden Arten gemacht worden.

In der abgeschnittenen Wandung der Schuppentasche finden sich sternförmige, mit zahlreichen, schmalen Fortsätzen versehene Melanophoren, grössere, besonders bei *Mullus surmuletus* oft netzförmig verbundene, mit Guaninkristallen erfüllte Iridocyten, ferner Xanthophoren und Erythrophoren; die letzteren liegen entweder isoliert oder dicht an einem Iridocyten resp. einem Iridocytenhaufen.

Von diesen Farbzellen sollen uns hier nur die Erythrophoren beschäftigen, da diese in mehrfacher Beziehung von den gewöhnlichen Rotzellen anderer Knochenfische abweichen und dadurch ein besonderes Interesse beanspruchen.

Ich will zunächst ihre äussere Form und innere Zusammensetzung beschreiben und alsdann ihre eigenartigen Bewegungserscheinungen schildern.

Die Erythrophoren von *Mullus* sind relativ kleine, sehr zierliche, stark abgeplattete, dünne Farbstoffzellen, welche in der Lederhaut parallel der Hautoberfläche ausgebreitet sind.

Alle Figuren der beiden Tafeln sind bei der gleichen, sehr starken, etwa 2000fachen Vergrösserung mit der Zeiss'schen homogenen Immersion 1,5 mm, Apert. 1,3, Kompensations-Okular Nr. 12 gezeichnet; als Lichtquelle diente durch eine Glaskugel konzentriertes Auerlicht.

Ich unterscheide, wie an den Chromatophoren der Knochenfische überhaupt, so auch an diesen Rotzellen nach der Verteilung des Pigmentes in der lebenden Zelle die beiden Extreme des völlig

ausgebreiteten und des völlig zusammengeballten Pigmentes: zwischen diesen beiden Extremen treten dann die zahlreichen Phasen der unvollständigen Pigmentausbreitung auf. Auch hier macht nur das Pigment die Form der Farbzelle sichtbar; das pigmentlose Protoplasma, in welchem sich das Pigment bewegt, ist so zart und durchsichtig, dass es an der lebenden Zelle so ohne weiteres nicht gesehen werden kann und völlig unsichtbar bleibt.

Die Fig. 1—3 der Taf. XV und Fig. 9a der Taf. XVI stellen Erythrophoren mit völlig ausgebreitetem Pigment dar. Von einer kleinen zentralen Scheibe strahlen in einer Ebene ausgebreitete, ausgesprochen keilförmige Fortsätze aus. Die Zahl dieser Fortsätze ist verschieden, meist nur gering, jedenfalls niemals sehr gross, bis zu einem Dutzend und nur selten ein wenig mehr. In den Fig. 1—3 sind es fünf, in Fig. 9a sechs keilförmige Strahlen. In Fig. 4 zählt man deren zehn, in den Fig. 10—13 der Taf. XVI neun bis elf. In der Nähe der zentralen Scheibe liegen die Fortsätze, wenn sie in dieser grösseren Zahl vorhanden sind, mit ihren Rändern oft so dicht aneinander, dass man sie nur schwer abgrenzen kann. Fig. 10, 11 und 14. Auch die Breite der Strahlen ist verschieden; manche sind sehr breit (Fig. 1—3), andere an demselben Stern ziemlich schmal (Fig. 10, 11 und 12).

In der Mitte der Scheibe macht sich der stets sehr deutliche Sphärenfleck geltend. Dieser ist meist verhältnismässig gross, variiert aber in seiner Grösse, wie die Figuren mit ausgebreitetem Pigment erkennen lassen. Gewöhnlich zeigt er eine deutliche gelbliche Färbung, bisweilen erscheint er aber auch farblos. Pigmentkörnchen fehlen in ihm oder sind doch nur spärlich vorhanden. Bei einem Individuum fand ich in vielen Erythrophoren im Zentrum des hellen Fleckes eine kleine, isoliert liegende Anhäufung von roten Pigmentkörnchen, wie es auch bei den schwarzen Pigmentzellen mancher Fische nicht selten ist und bei den letzteren schon von anderen Autoren gesehen wurde.

Ist das Pigment ausgebreitet, so fällt der durch seine eigenartige Lage ausgezeichnete Kern auf. Da ist zunächst hervorzuheben, dass jede Rotzelle stets nur einen einzigen Kern besitzt; unter den Tausenden dieser *Mullus*-Zellen, welche mir zu Gesicht kamen, habe ich nur ein einziges Mal eine mit zwei Kernen angetroffen. Die Einzahl des Kernes in diesen Polzellen ist sehr merkwürdig, wenn man bedenkt, dass die Melanophoren der

Knochenfische gewöhnlich zwei Kerne, nicht selten mehrere, besitzen; nur ausnahmsweise sind mir bei manchen Fischen Schwarzzellen vorgekommen, welche konstant nur einen Kern aufwiesen.

Sodann ist die Lage des Kernes in den Mulluszellen sehr eigenartig. Der Kern befindet sich nämlich nicht, wie sonst bei den Chromatophoren, in der Nachbarschaft der Zellmitte, sondern ist stets in einem Fortsatz gelegen und hier sehr weit gegen die Peripherie vorgeschoben. Man trifft ihn stets in der äusseren Hälfte eines breiteren, keilförmigen Fortsatzes und in der Nähe von dessen freiem äusserem Rande an. Wie die Figuren 1—3 und 9a zeigen, ist er bei völlig ausgebreitetem Pigment rings herum von letzterem umgeben, die Pigmentzone, welche ihn von dem freien, äusseren Rande des Fortsatzes trennt, ist nur schmal. Zieht sich das Pigment zentralwärts zurück, so werden zuerst der äussere Kernrand, alsdann seine Seitenränder und schliesslich der innere Rand pigmentfrei, worauf ich bei Besprechung der Bewegungserscheinungen noch zurückkommen werde. Ist der Kern von Pigment umflossen, so erscheint er als kreisrunde oder auch ein wenig längliche, ausgesparte, helle Stelle, bewahrt diese Form aber auch, wenn das Pigment ganz aus seiner Nähe gewichen ist. Kernkörperchen und Andeutungen der Kernstruktur lassen sich in ihm erkennen, sind aber in den Zeichnungen nicht wiedergegeben. Die Grösse des Kernes variiert in den einzelnen Erythrophoren etwas und ist im Vergleich mit der ganzen Zelle beträchtlich.

Die Pigmentkörnchen zeichnen sich durch ihre zarte rote Farbe aus, welche den Zellen bei ausgebreitetem Pigment die schöne, hellziegelrote Färbung verleihen, welche in den Figuren der beiden Tafeln möglichst naturgetreu wiedergegeben wurde. Die diffuse gelblichrote Färbung, welche in den Figuren zwischen den Körnchen sichtbar ist, wird durch die durchschimmernden Körnchen oberflächlicher und tieferer Lagen bedingt. Ist das Pigment zusammengeballt, so wird die Färbung dunkler, intensiver und nähert sich mehr dem Braunrot. Fig. 5—8 der Taf. XV und Fig. 9e und 17—21 der Taf. XVI.

Das Pigment gehört zu den Fettfarbstoffen (Lipochromen) und lässt sich daher leicht extrahieren; behandelt man Hautstückchen mit absolutem Alkohol, so verschwindet es aus den Präparaten vollständig.

Die roten Farbstoffkörnchen sind sehr klein und anscheinend von kugeliger Gestalt. Ihre Grösse variiert etwas. Nicht selten trifft man in manchen Zellen besonders grosse rote Kügelchen an, die aber stets nur spärlich bleiben und auch in ihrer Grösse verschieden sind. Fig. 9, 14 und 15 der Taf. XVI.

Das Auffälligste und ganz Regelmässige an diesen Körnchen ist ihre strenge Anordnung in vom Zentrum gegen die Peripherie ausstrahlenden, radiären Reihen, welche an jeder lebenden Zelle und in ihr fast an jeder Stelle auf das deutlichste hervortritt. Nur wenn das Pigment maximal ausgebreitet ist, kann an der äusseren Peripherie der breiten Enden der keilförmigen Fortsätze eine leichte Anhäufung der Körnchen auftreten. Fig. 1—3 der Taf. XV und Fig. 9a.

Die einzelnen roten Pigmentkörnchen lassen sich nur unterscheiden und voneinander abgrenzen, wenn das Pigment ausgebreitet ist. Hat sich die Körnchenmasse dagegen zentralwärts vollständig zusammengeballt, so liegen die Körnchen so dicht aneinander, dass eine deutliche Unterscheidung nicht mehr möglich ist.

Im Zustande der maximalen Ballung ist die konzentrierte Pigmentmasse nun sehr viel kleiner als bei völlig ausgebreitetem Pigment und stellt eine kleine, meist kreisrund oder annähernd kreisrund begrenzte Scheibe dar, deren beide Flächen konvex gewölbt sind. Der Rand der Scheibe tritt sehr dunkel und stark lichtbrechend hervor und ist oft ein wenig unregelmässig. Fig. 6—8 auf Taf. XV und Fig. 19 der Taf. XVI. Auch die Grösse dieser Scheiben ist verschieden, wie die Grösse der Zellen selbst.

In der Mitte einer jeden Scheibe bleibt nun stets bei mittlerer Einstellung der Sphärenfleck sichtbar und erscheint als zentraler Fleck von gelblich roter Farbe, die aber wesentlich heller bleibt als die Färbung der Pigmentscheibe selbst. Wie die Fig. 5—8 der Taf. XV und Fig. 9d und e sowie Fig. 17—19 der Taf. XVI am besten illustrieren, sind Grösse, Form und Aussehen des Sphärenfleckes sehr verschieden, während seine Begrenzung meist ziemlich scharf ausgeprägt ist.

Stellt man die Pigmentscheibe oberflächlich ein, so erscheinen zuerst dunkle Punkte, welche sich in die Tiefe gegen die Sphäre hin verfolgen lassen, und die ich geneigt bin, für von dem Zentrum zur Oberfläche der Scheibe verlaufende Protoplasmazüge

zu halten. Bei mittlerer Einstellung der Scheibe erkennt man dann zahlreiche dunklere und hellere, meist grobkörnig aussehende Streifen und Linien, welche von der Sphäre gegen die Peripherie hin radiär ausstrahlen; mithin ist auch in dem zusammengeballten Pigment noch eine radiäre Struktur nachweisbar. Fig. 5—8 der Taf. XV und Fig. 9e, 17—19 der Taf. XVI. Diese radiäre Zeichnung der Scheiben verschwindet aber alsbald nach dem Absterben der Zellen. Entnimmt man die Präparate Fischen, welche schon seit einigen Stunden tot sind, so zeigen die zusammengeballten Pigmentmassen meist das Aussehen der Fig. 20 und 21. Die Pigmentmasse ist verklumpt, sieht mehr gleichmässig aus und besitzt oft eine unregelmässige, stark lichtbrechende Begrenzung. Die Sphäre ist in diesen Zellen noch deutlicher als vorher und präsentiert sich als zentraler, heller, lochartiger Fleck, so dass die Pigmentmasse die Form eines Ringes darbietet.

An den abgestorbenen Erythrophoren mit ausgebreitetem Pigment fiel mir auf, dass einige Zeit nach dem Tode in ihnen nicht selten eine lebhaft Brown'sche Molekularbewegung zur Beobachtung kam.

Die Bewegungserscheinungen an diesen Pigmentzellen gleichen im allgemeinen denjenigen, welche ich bei den Melanophoren beobachtet und in kinematographischen Aufnahmen auf der Versammlung der Anatomischen Gesellschaft in Greifswald¹⁾ kürzlich vorgeführt habe, nur mit dem Unterschiede, dass die Totalkontraktionen des Protoplasmas, welche zur Ausbreitung und Ballung der Pigmentkörnchen führen, noch weit schneller und lebhafter erfolgten als bei den Schwarzzellen.

Beobachtet man in den nach dem oben angegebenen Verfahren hergestellten Präparaten die lebenden Rotzellen, so ist man überrascht von dem anziehenden, eigenartigen Schauspiel, welches die Pigmentverschiebungen dieser Erythrophoren darbieten. Die ganze ausgebreitete Pigmentmasse zieht sich plötzlich zu der

¹⁾ Siehe E. Ballowitz: Über chromatische Organe, schwarz-rote Doppelzellen und andere eigenartige Chromatophorenvereinigungen, über Chromatophorenfragmentation und über den feineren Bau des Protoplasmas der Farbstoffzellen. Mit Demonstrationen und kinematographischer Vorführung der Pigmentströmung. Vortrag, gehalten auf der 27. Versammlung der Anatomischen Gesellschaft am 25.—29. Mai 1913 in Greifswald. Verhandlungen der Anatomischen Gesellschaft auf der 27. Versammlung in Greifswald. G. Fischer, Jena 1913.

kleinen intensiv roten Scheibe zusammen, die sich dann wieder fast unmittelbar darauf zu dem schönen Pigmentstern ausbreitet. Als bald erfolgt wieder eine Zusammenballung mit anschliessender Ausbreitung und so fort. Diese fast rhythmischen Bewegungen der Ausbreitung und Ballung vollziehen sich äusserst schnell, momentan. Das Schauspiel erinnerte mich etwas an die rhythmische Ausdehnung und Zusammenziehung der Umbrella einer schwimmenden Meduse, doch erfolgen die Chromatophorenbewegungen noch schneller und präziser. Als bald kommt es in dem unter Beobachtung bleibenden Präparat nicht mehr zu einer maximalen Ausbreitung des Pigmentes, die Sterne werden bei der Diastole kleiner und kleiner, bis schliesslich nur am Rande der Pigmentscheibe noch Pigmentreihen hervorschiessen. Schliesslich unterbleibt auch das, und die Pigmentscheibe beharrt im Zustande der Ballung; das war in den Präparaten meist nach 5 bis höchstens 15 Minuten der Fall. Im Zustande der maximalen Ballung stirbt auch hier gewöhnlich die Zelle ab. Die rhythmische Bewegung wird aber nicht immer und auch nicht in der gleichen Intensität angetroffen. Es kommt auch nicht selten vor, dass die Erythrophoren stellenweise in den Präparaten längere Zeit im Zustande des ganz oder unvollständig ausgebreiteten Pigmentes beharren; schliesslich gehen sie aber doch in die Systole über. Auf die Bewegungserscheinungen an diesen im Zustande des vollständig oder unvollständig ausgebreiteten Pigmentes beharrenden Farbzellen werde ich unten noch zurückkommen.

Wie betont, erfolgen alle diese Totalbewegungen der Zelle ausserordentlich schnell, momentan. Man gewinnt fast den Eindruck wie bei muskulären, auf Zusammenziehung kontraktile Fibrillen beruhenden Bewegungen. Überhaupt könnte ein Beobachter beim ersten Anblick dieser Bewegungen zur Ansicht kommen, dass der Körper dieser Chromatophorenzelle mit der Begrenzung der Pigmentmasse zusammenfiel, und dass die Ballung des Pigmentes durch die Kontraktion der Gesamtzelle verursacht würde, während bei der Ausbreitung des Pigmentes pseudopodienartige breite Zellfortsätze ausgestreckt würden. Man sieht eben nur die Pigmentmasse und ihre wie Kontraktionen imponierenden Formveränderungen.

Hiergegen liesse sich aber sofort einwenden, dass meines Wissens keine Zelle eines Gewebes bekannt ist, die imstande

wäre, so breite und so zahlreiche Pseudopodien so ausserordentlich schnell auszustrecken und aus sich gewissermassen herauszuschiessen.

Aber auch hiervon abgesehen, lässt sich die obige Ansicht sehr leicht und schlagend durch direkte Beobachtung des lebenden Objektes widerlegen. Hierbei kommen mehrere für die Physiologie und Histologie dieser Zellen wichtige Momente in Betracht.

Zunächst ist mir bis jetzt keine Farbstoffzelle vorgekommen, welche zur Entscheidung der Frage, ob das Pigment bei seiner Ausbreitung stets wieder an denselben Ort zurücktritt, so geeignet wäre als diese Mulluszelle. Da das Pigment sich schnell und rhythmisch zusammenballt und wieder ausdehnt, lässt sich an diesen Erythrophoren auf das genaueste und leichteste unter dem Mikroskop feststellen, dass die Form der pigmenterfüllten Zelle bei der jedesmaligen Pigmentausbreitung stets dieselbe bleibt, und das Pigment jedesmal an seinen früheren Ort wieder zurückkehrt. In den Fig. 9a—e sind die einzelnen Phasen von der maximalen Pigmentausbreitung bis zur totalen Ballung nach dem Leben gezeichnet. Diese Figuren blieben bei allen diastolischen Ausbreitungen des Pigmentes stets dieselben. Wenn man von 9e bis 9a die Figuren zurückverfolgt, so erhält man damit auch die Phasen der jedesmaligen Pigmentausbreitung.

Sodann lässt sich am Kern hinsichtlich seiner Lage eine sehr wichtige Tatsache feststellen, die bei der Beobachtung des lebenden Objektes sofort in die Augen springt.

Oben wurde des Näheren ausgeführt, dass der verhältnismässig grosse Kern stets in Einzahl vorhanden ist und eine ganz peripherische Lage im äusseren Teile eines keilförmigen Fortsatzes aufweist. Diese Lage behält der Kern nun in allen Phasen der Pigmentverschiebung ohne Veränderung bei. Ist das Pigment maximal oder nahezu maximal ausgebreitet, so wird der Kern ringsherum von den Pigmentkörnchen umgeben, die sich in seiner unmittelbaren Nähe nicht selten etwas anstauen und anhäufen. Fig. 1—3 der Taf. XV, Fig. 9a, 12 und 13 der Taf. XVI. Strömt die Pigmentmasse zentralwärts zurück, so werden zuerst der äussere Kernrand (Fig. 4, 9b, 13 und 15) und sodann auch seine Seitenränder (Fig. 9c und 14) von Pigmentkörnchen entblösst. Dann ist nur noch der innere, der Zellmitte zuge-

wandte Rand des Kernes in Kontakt mit der Pigmentmasse des Fortsatzes. Fig. 9c und 14. Weicht das Pigment bei der beginnenden Zusammenballung alsdann noch weiter zentralwärts zurück, so tritt der Kern vollständig ausser Berührung mit der Pigmentmasse und ist alsbald weit davon getrennt. Fig. 9d und 9e. Er erscheint alsdann als deutlich sichtbare, zart begrenzte, kreisrunde oder ein wenig elliptische Scheibe und bewahrt genau den Platz, den er vorher inne hatte. Der Kern wird also nicht im geringsten durch die schnellen Pigmentverschiebungen in seiner Lage und auch in seiner Form beeinflusst. Man sieht daher an diesem günstigen Objekt an einer jeden zusammengeballten Pigmentscheibe in einiger Entfernung von ihr den zugehörigen Erythrophorenkern. Infolge seiner peripherischen Lage in dem Erythrophoren liegt er dabei in ziemlicher Entfernung von der Pigmentscheibe, die Entfernung kann fast das Ausmass des Durchmessers des Kernes erreichen. Auch erscheint alsdann der Kern bisweilen so gross, ja noch etwas grösser als die zusammengeballte Pigmentscheibe selbst, wenngleich die letztere in den meisten Zellen wesentlich grösser als der Kern bleibt. In den Figuren 9d, 9e und 18 ist der vom Pigment völlig entblösste, liegen gebliebene Kern als zart begrenzter Kreis gezeichnet. An den übrigen Figuren mit zusammengeballtem Pigment und zwar in Fig. 5—8, 17 und 19—21, war er gleichfalls in der Nachbarschaft der Scheiben vorhanden, wurde aber der Raumersparnis wegen auf den Tafeln nicht angegeben. Dehnt sich das Pigment alsdann wieder aus, so umbranden gewissermassen die Pigmentkörnchen den liegengebliebenen Kern und machen ihn als hellen, ausgesparten Fleck wieder deutlich sichtbar. Man kann sich dies in den Phasen der Fig. 9 veranschaulichen, wenn man die Phasen rückwärts von 9e bis 9a verfolgt.

Mehrmals habe ich gesehen, dass die Pigmentmasse bei beginnender Zusammenballung sich in dem kernhaltigen Fortsatz am längsten erhielt und aus ihm zuletzt austrat, als würde durch die Anwesenheit des Kernes ein gewisses Hemmnis gegeben. Fig. 16 der Taf. XVI illustriert diese Erscheinung.

In Fig. 11 ist das nicht maximal ausgebreitete Pigment schon von dem Kern ganz zurückgewichen, der in der Nähe der Pigmentscheibe sichtbare Kern ist in dieser Figur aber nicht gezeichnet worden.

An diesen Mollusczellen ist mithin noch viel schöner und leichter festzustellen, dass die Chromatophorenkerne bei den Pigmentverschiebungen an ihrem Platze unverändert liegen bleiben, als ich es bei den Melanophoren an anderer Stelle¹⁾ kürzlich nachweisen konnte. Wie ich dort ausführte, ist es selbstverständlich, dass die Kerne bei zusammengeballtem Pigment nicht völlig frei im Gewebe liegen können, sondern von dem Chromatophorenprotoplasma umgeben sein müssen. Dass dem so ist, lässt sich direkt beobachten. Die kernhaltigen Figuren mit ausgebreitetem Pigment in Fig. 1—4, 9a—9c, 10 und 12—16 sind bei mittlerer Einstellung der Zellen gezeichnet, so dass der Kern in ihnen als pigmentfreier Fleck erscheint. Stellt man in diesen Präparaten aber die obere oder die untere Oberfläche des abgeplatteten Kernes ein, so sieht man, dass auch diese von Körnchenreihen des sich ausbreitenden Pigmentes bedeckt sind, der Kern mithin ringsherum im pigmenthaltigen Chromatophorenprotoplasma liegen muss.

Die roten Mollusczellen sind nach obigem ein ausserordentlich geeignetes und überzeugendes Objekt, um schon an der lebenden Zelle die Formbeständigkeit des Chromatophorenprotoplasmas nachzuweisen und festzustellen, dass die Formveränderungen der Pigmentmassen durch Verschiebungen des Pigmentes, durch ein Aus- und Zurückströmen der Pigmentkörnchen in den liegenbleibenden Zellfortsätzen hervorgerufen werden.

Die Art der Pigmentverschiebung und der Strömung der Pigmentkörnchen ist nun eine so eigenartige und ganz typische, dass sie die wichtigsten Schlüsse auf die feinste innere Zusammensetzung des Protoplasmas dieser Erythrophoren zulässt.

Wie ein Blick auf alle nach dem Leben gezeichneten Erythrophoren mit ausgebreitetem Pigment auf den beiden Tafeln zeigt, sind die Pigmentkörnchen in streng radiären Reihen angeordnet, die von der Gegend der Sphäre gegen die Peripherie der Fortsätze ausstrahlen. In diesen radiären Reihen findet auch die zentrifugale und zentripetale Bewegung der Körnchen statt. Am lebhaftesten

¹⁾ E. Ballowitz, Das Verhalten der Zellkerne bei der Pigmentströmung in den Melanophoren der Knochenfische. (Nach Beobachtungen am lebenden Objekt.) *Biolog. Centralblatt*, Bd. XXXIII, Nr. 5, 20. Mai 1913. Vgl. auch meine Mitteilung über das Verhalten des Zellkerns bei der Pigmentströmung in den Erythrophoren der Knochenfische. *Nach Beobachtungen an der lebenden Mollusczelle*. *Biolog. Centralblatt*, Bd. XXXIII, 1913.

ist diese Bewegung in dem Moment, wenn die Pigmentmasse aus dem zusammengeballten Zustande in die Fortsätze übertritt und beginnt, sich auszubreiten. Infolge der lebhaften Bewegung scheinen die Körnchen dann förmlich durcheinander zu wirbeln, wie die Flocken eines Schneegestöbers. Wenn man aber näher hinsieht, so ist auch hier die radiäre Richtung der Bewegung zu erkennen.

Ein anderes eigenartiges Phänomen, welches ich als „Körnchentanz“ oder „Kugelspiel“ schon bei den Melanophoren¹⁾ beschrieben habe, kommt auch bei diesen Erythrophoren an den peripherischen Enden der Fortsätze bei nicht maximal ausgebreitetem Pigment regelmässig zur Beobachtung.

In den Figuren der Tafeln stellt man fest, dass die Seitenränder der pigmenthaltigen Fortsätze stets geradlinig erscheinen. Dagegen fehlt bei nicht vollständig expandiertem Pigment den peripherischen Enden der Fortsätze die Begrenzung. Statt dessen schnellen hier beständig Pigmentkörnchen und Stücke von Körnchenreihen, bisweilen auch ganze Körnchenreihen, hervor, kehren zurück, kommen wieder und so fort, so dass hier ein immerwährendes förmliches Jonglieren der roten Körnchen statt hat. Dieses Jonglieren der Körnchen spielt sich aber stets — wohl-gemerkt! — in radiärer Richtung ab.

In den Fig. 9b, 9c und 10 - 16 sind diese im Leben vor-schnellenden Körnchen und Körnchenreihen angegeben, und ist ihre radiäre Anordnung sehr auffällig. Auch aus der zusammengeballten Scheibe kurz vor der totalen Zusammenballung schießen oft noch Körnchen und Körnchenreihen in radiärer Richtung hervor. Vgl. Fig. 5—8 auf Taf. XV, Fig. 9d und 16 auf Taf. XVI. Ist dagegen das Pigment maximal ausgebreitet, wie in den Fig. 1—3 und 9a, so fehlt der Körnchentanz.

Schliesslich ist noch zu erwähnen, dass bei ausgebreitetem Pigment die Körnchenmasse sich in einer beständigen lebhaften

¹⁾ Vgl. E. Ballowitz, Über chromatische Organe, schwarzrote Doppelzellen und andere eigenartige Chromatophorenvereinigungen, über Chromatophorenfragmentation und über den feineren Bau des Protoplasmas der Farbstoffzellen, mit Demonstrationen und kinematographischer Vorführung der Pigmentströmung. Vortrag, gehalten auf der 27. Versammlung der Anatomischen Gesellschaft zu Greifswald 10.—13. Mai 1913. Verhandlungen der Anatomischen Gesellschaft. G. Fischer, Jena 1913.

Bewegung befindet, welche ich bei den Melanophoren schon näher beschrieben habe. Die roten Körnchen bewegen sich auch hier beständig zuckend und ruckend in radiären Reihen, wobei die einen Reihen in zentrifugaler, die anderen in zentripetaler Richtung strömen; doch kann sich die Bewegungsrichtung auch ändern und ist an keine bestimmten Reihen gebunden. Diese strömende Bewegung ist in gleicher Weise auch in den Erythrophoren vorhanden, deren Pigment wie in den Fig. 1—3 und 9a maximal ausgebreitet ist. Ein Ruhestadium für die Körnchen besteht also in diesen Phasen hier ebensowenig wie bei den Melanophoren.

Alle diese eigenartigen Bewegungsphänomene kann ich nur dadurch erklären, dass das Protoplasma dieser Chromatophoren mit sehr zahlreichen, feinsten, radiär verlaufenden Kanälchen versehen ist, deren zarte, dünne, protoplasmatische Wandung lebhaft kontraktile ist; auch ist die erschlaffte Wandung der Kanälchen dehnbar, da, wie die Fig. 9a—d und 14 zeigen, auch gröbere Körnchen die Kanälchen passieren. Durch die Kontraktion dieses Wandungsprotoplasmas werden die Körnchenströmungen hervorgerufen. Zieht sich das Gesamtprotoplasma der Fortsätze von der Peripherie aus zentralwärts der Quere nach zusammen, so wird die Pigmentmasse in den Radiärkanälchen zentralwärts getrieben und erfüllt die Hohlräume der dann erschlaffenden zentralen Scheibe, so dass die Ballung des Pigmentes erfolgt. Kontrahiert sich die Protoplasmamasse der Scheibe, so erschlaffen die Fortsätze und die Pigmentkörnchen strömen mit Gewalt in den Radiärkanälchen gegen die Peripherie. Bleiben die peripherischen Enden der Fortsätze kontrahiert oder genügt bei erlahmender Bewegung der zentrale Druck nicht mehr, um die Körnchen ganz an die Peripherie zu treiben, so entsteht an den peripherischen Enden der „Körnchentanz“, das radiäre Jonglieren der Körnchen in den Radiärkanälchen. Bei völlig ausgebreitetem Pigment muss dagegen der Körnchentanz fehlen, wie es in der Tat der Fall ist, da alsdann die Kanälchen erfüllt sind und kein Platz zum Hervorschnellen in ihnen mehr vorhanden ist.

Diese Beobachtungen an den interessanten Erythrophoren von *Mullus* bestätigen mithin durchaus meine Anschauungen über den feineren Aufbau des Chromatophorenplasmas und die Mechanik der Körnchenströmung in ihm, Anschauungen, welche ich schon

in meinen früheren Chromatophoren-Arbeiten entwickelt habe und auf welche ich daher hier verweisen will.¹⁾

Es sei nur noch erwähnt, dass es mir noch nicht gelungen ist, an den pigmentlos gewordenen Fortsätzen dieser Mulluszellen die Kanälchenwandungen in ganzer Ausdehnung zu erkennen. Mein Aufenthalt in Neapel war dieses Mal zu kurz, um nach dieser Richtung hin noch eingehendere Studien nach verschiedenen Methoden anstellen zu können. Es sei nur noch betont, dass ich an dem frischen Objekt alsbald nach der Zusammenballung und dem Absterben der Zellen in dem Präparat des öfteren einige derbe, schmale, radiäre Streifen wahrnahm, welche in der Richtung der Fortsätze von der Pigmentscheibe ausstrahlten. Diese radiären Streifen schienen der Begrenzung der Fortsätze zu entsprechen, doch war es mir noch nicht möglich, die Bedeutung dieser Streifen mit Sicherheit festzustellen.

Bei genauer Einstellung der meist nur spärlichen Pigmentreihen, welche an der oberen und unteren Fläche des Kernes über letzteren in radiärer Richtung hinweggleiten, habe ich oft den bestimmten Eindruck erhalten, dass äusserst feine Linien über den Kern radiär hinwegziehen und schmale, helle Räume begrenzen, die etwa die Breite der Pigmentkörnchen haben, und in denen die Körnchen strömen. Dies schien mir der optische Ausdruck der Kanälchenstruktur des Protoplasmas zu sein.

¹⁾ Vgl. E. Ballowitz: Die chromatischen Organe in der Haut von *Trachinus vipera* Cuv. Ein Beitrag zur Kenntnis der Chromatophorenvereinigungen bei Knochenfischen. Mit Taf. XIV—XVIII. Zeitschrift für wiss. Zool., Bd. CIV, 1913. Derselbe, Über chromatische Organe in der Haut von Knochenfischen. Mit 15 mikrophotographischen Abbildungen. Anat. Anz., Bd. XLII, Nr. 7/8, 1912. Derselbe: Über schwarz-rote und sternförmige Farbzellenkombinationen in der Haut von Gobiiden. Ein weiterer Beitrag zur Kenntnis der Chromatophoren und Chromatophoren-Vereinigungen bei Knochenfischen. Mit 25 Textfiguren und 5 Tafeln. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. CVI, 1913. Derselbe: Über schwarz-rote Doppelzellen und andere eigenartige Vereinigungen heterochromer Farbstoffzellen bei Knochenfischen. Mit 29 mikrophotographischen Abbildungen. Anat. Anz., Bd. XLIV, Nr. 5, 1913. Derselbe: Über chromatische Organe, schwarz-rote Doppelzellen und andere eigenartige Chromatophoren-Vereinigungen, über Chromatophorenfragmentation und über den feineren Bau des Protoplasmas der Farbstoffzellen. Mit Demonstrationen und kinematographischer Vorführung der Pigmentströmung. Vortrag, gehalten auf der 27. Versammlung der Anatomischen Gesellschaft am 25.—29. Mai 1913 in Greifswald. Verhandlungen der Anatomischen Gesellschaft auf der 27. Versammlung in Greifswald. G. Fischer, Jena 1913.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel XV und XVI.

Vorbemerkungen.

Die sämtlichen Figuren stellen Erythrophoren aus der Rückenhaut der Seebarbe, *Mullus barbatus* L. und *Mullus surmuletus* L., dar und wurden nach dem lebensfrischen Objekt an der Zoologischen Station in Neapel bei stärkster ca. 2000 facher Vergrößerung (Zeiss'sche homogene Immersion 1,5, Apert. 1,3, Kompensations-Okular Nr. 12) gezeichnet.

Tafel XV.

- Fig. 1—3. Drei Erythrophoren in Diastole, d. h. mit völlig ausgebreitetem Pigment. Der einfache, peripher in einem Fortsatz gelegene Kern erscheint bei mittlerer Einstellung als ausgesparter, heller Fleck.
- Fig. 4. Das Pigment beginnt sich zentralwärts zurückzuziehen; der Kern ist nur noch an den Seiten und zentralwärts vom Pigment umflossen.
- Fig. 5—8. Fünf Erythrophoren in Systole mit fast vollständig zusammengeballtem Pigment; am Rande schnellen noch vereinzelt Körnchen und Körnchenreihen in radiärer Richtung hervor. Die helle zentrale Sphäre zeigt ein verschiedenes Aussehen.

Tafel XVI.

- Fig. 9a—e. Derselbe Erythrophor in den verschiedenen Phasen der Ausbreitung und Zusammenballung des Pigmentes. Ausser den kleinen Pigmentkörnchen sind in der Zelle noch mehrere grössere, kugelige, rotbraune Pigmentkörner vorhanden. Der Kern ist bei ausgebreitetem Pigment (Fig. 9a—c) als helle, ausgesparte Stelle, bei zusammengeballtem Pigment (Fig. 9d und e) als zart begrenzter Kreis sehr deutlich sichtbar und behält bei allen Ausdehnungs- und Ballungszuständen des Pigmentes stets die gleiche, unveränderte Lage bei.
- Fig. 10—15. Sechs Erythrophoren in verschiedenen Ausbreitungszuständen des Pigmentes. In Fig. 12 und 13 ist der Kern noch völlig vom Pigment umgeben, in Fig. 10, 14 und 15 nur noch zum Teil. In Fig. 11 hat sich das Pigment bereits völlig aus der Umgebung des Kernes zentralwärts zurückgezogen.
- Fig. 16. Erythrophor mit beginnender Ballung des Pigmentes, während noch zahlreiche Pigmentkörnchenreihen am Rande hervorschnellen und den Kern noch umflossen haben.
- Fig. 17—19. Zentrale in Systole befindliche, d. h. zusammengeballte Pigmentmasse von drei verschieden grossen Erythrophoren. In Fig. 18 ist der zugehörige, in seiner Lage erhaltene, in grösserer Entfernung von der Pigmentscheibe befindliche Zellkern sichtbar.
- Fig. 20 und 21. Zentrale, zusammengeballte, nach dem Absterben bereits veränderte Pigmentmasse aus der Haut eines seit 3 Stunden toten Fisches.

Aus dem Anatomischen Institut in Strassburg.

Über die Bildung von Leukozyten in der menschlichen und tierischen Thymus des erwachsenen Organismus.

Von
Paul Weill.

XI. Fortsetzung der „Studien über das Blut und die blutbildenden und -zerstörenden Organe“.

Von
Franz Weidenreich.

Mit Tafel XVII und XVIII.

Bei den vielen und umfangreichen Untersuchungen, die in den letzten Jahren der Genese, dem Bau und der Funktion der Thymus gewidmet waren, ist man im allgemeinen ziemlich achtlos an den granulierten Zellen der Thymus vorbeigegangen. Man begnügte sich — mit wenigen Ausnahmen — ihr Vorhandensein zu registrieren, ohne aber ihrer Bedeutung für die Beurteilung des Thymus-Problems gerecht zu werden. Dabei haben im wesentlichen nur die eosinophil granulierten Zellen, seitdem Schaffer die Aufmerksamkeit auf sie gelenkt hatte, einige Beachtung gefunden, ohne dass man jedoch zu einer einheitlichen Auffassung ihrer Natur gelangt wäre; die basophil granulierten Elemente sind erst im letzten Jahre von Barbano etwas berücksichtigt worden, und die Anwesenheit neutrophil granulierter Zellen beim Menschen ist mit Ausnahme einer gelegentlichen Bemerkung Ghikas völlig unbekannt geblieben. Und doch ist gerade bei der Entscheidung der strittigen Frage nach der Natur der kleinen Thymuszellen und dem lymphoiden Charakter der Thymusrinde das Vorkommen solcher Elemente von Belang, die nach ihrer gesamten Erscheinungsform den Leukozyten zuzuzählen sind. Andererseits war zu hoffen, dass eine genauere Untersuchung dieser granulierten Elemente der Thymus vor allem in Rücksicht auf ihre Herkunft und Genese weitere Aufschlüsse bringen könnte

über die Bildung granulierter Leukozyten in Organen von rein lymphoidem Zellcharakter.¹⁾

Material und Untersuchungsmethoden.

Zu unseren Untersuchungen wählten wir zunächst die Thymus ausgewachsener Ratten, weil diese Tiere in der Morphologie ihrer Leukozyten Besonderheiten zeigen, die diese von allen ähnlichen Zellen leicht zu unterscheiden gestatten. Die weissen Blutkörperchen sind hier nämlich durch charakteristische Ringkerne ausgezeichnet. Die Thymen dieser Tiere wurden in der Hellyschen Modifikation der Zenkerschen Fixierungsflüssigkeit 2 Stunden lang bei 37° fixiert und in Paraffin eingebettet. Die Schnittdicke betrug 3 - 6 μ .

Ausserdem haben wir menschliches Material zu untersuchen Gelegenheit gehabt und zwar standen uns vier Thymen von Erwachsenen zur Verfügung. Die erste stammte von einem 17jährigen jungen Arbeiter, der von einer Notbrücke herab ins Wasser fiel und ertrank. Die Thymus wurde 1 Stunde p. m. in „Zenkerformol“ bei 37° eingelegt. Die zweite Thymus rührte von einem 37jährigen, gut genährten Manne her, der hingerichtet worden war. Die Fixation erfolgte $\frac{1}{4}$ Stunde nach dem Tode ebenfalls in „Zenkerformol“. Die dritte war die eines 19jährigen Hingerichteten, die ebenfalls sofort nach dem Tode in Zenkerscher Flüssigkeit fixiert wurde. Sie wurde aus dem älteren Materialbestande des Institutes entnommen. Die vierte endlich stammte von einem 15jährigen Jungen, der bei Bedienung einer Maschine tödlich verunglückte; die Thymus wurde etwa 3 Stunden nach dem Tode fixiert.

Dass wir es im 2. und 3. Falle sicher nicht mit Organen krankhaft veränderter Individuen zu tun hatten, ergibt sich aus dem Befunde der übrigen Organe, die ebenfalls eingelegt und zur Kontrolle untersucht wurden. Sie erwiesen sich insgesamt als normal. Von dem 1. und 4. Falle stand uns nur die Thymus zur Verfügung, eine Erkrankung bestand aber auch hier nicht. Das menschliche Material wurde ebenso wie das tierische weiter-

¹⁾ Vorliegende Untersuchungen waren der Gegenstand eines Vortrags, den Herr Prof. Weidenreich auf der Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte in Münster i. W. (1912) hielt und in der Münchner Mediz. Wochenschr., 1912, Nr. 48, veröffentlichte.

behandelt und in Paraffin eingebettet. Die Schnittdicke war meist 5 μ .

Von Färbungsmethoden wurden angewandt:

1. Hämalaun-Eosin; durch diese Färbung gewinnt man besonders gute Übersichtsbilder; auch ist sie zur Sichtbarmachung eosinophiler Zellen sehr geeignet.

2. Triacidfärbung nach Ehrlich. Die Färbungsdauer betrug bei unverdünnter Farblösung 15 Minuten, die Entwässerung geschah in Aceton.

3. Giemsa-Färbung für Romanowsky-Färbung. Die Färbung wurde nach den Angaben Schriddes (2 Tropfen Farbe auf 1 ccm dest. Wasser) ausgeführt; die Färbungsdauer betrug 20 Minuten, die Schnitte wurden danach in Wasser kurz abgewaschen und in Aceton entwässert. Diese Methode bringt besonders die eosinophilen und neutrophilen Leukozyten-Granula schön zur Darstellung, lässt aber auch Plasma- und Mastzellen gut hervortreten.

4. Methylgrün-Pyroninfärbung nach Pappenheim. Pyronin 35 Teile und Methylgrün 15 Teile wurden frisch zusammengemischt; mit der Mischung wurde 3 Minuten lang gefärbt. Danach wurden die Schnitte in Wasser ausgewaschen und in Aceton kurz entwässert. Die Methode diente speziell zur Darstellung der basophilen Zellen, d. h. der kleinen und grossen Lymphozyten, der Plasma- und Mastzellen.

Literatur.

Da Hammar (09b) in seinem vorzüglichen Sammelreferat: „50 Jahre Thymusforschung“ eine ausführliche Darlegung der Thymusfrage erst vor kurzem gegeben hat, dürfte eine allzu eingehende Berücksichtigung der Literatur an dieser Stelle wohl unnötig erscheinen. Nach der älteren Anschauung sah man in der Thymus einfach eine sich frühzeitig zurückbildende Lymphdrüse. Nachdem aber Koelliker und Stieda den Beweis geliefert hatten, dass die Thymus dem Schlundspaltenepithel entstamme, liess sich diese Lymphdrüsennatur schwer mit der herrschenden Lehre von der Spezifität der Keimblätter in Einklang bringen.

Erst die Untersuchungen Hammars (05, 07, 08, 09a) und seiner Schüler brachten die Frage nach der morphologischen Stellung der Thymus erneut in Fluss. Nach Hammar gelangen

in die ursprüngliche epitheliale Anlage mesenchymatöse, lymphoide Elemente hinein. Die Epithelzellen der primären Anlage sowie ihre Abkömmlinge würden nur zu einem Gerüst, in dessen Maschen die einwandernden Leukozyten sich festsetzten und so die Rinde (Thymusrindenzellen) bildeten, während in dem übrigen Gebiet, dem Mark, die lymphoiden Zellen völlig oder fast völlig fehlten. Jene Rindenzellen seien daher echte Lymphozyten. Durch das Eindringen solcher lymphoider Elemente erfahre die Thymus eine weitgehende gewebliche Umwandlung und erwerbe zum Teil leukozytären Charakter. In ihrem schematischen Aufbau sei sie freilich nicht direkt mit anderem lymphoiden Gewebe vergleichbar, aber nach der Art ihrer Zellprodukte müsse sie ihm sicher beigezählt werden.

Auch in bezug auf die Frage nach dem Zeitpunkte der Involution der Thymus hat Hammar (05, 06) in einer Reihe von Untersuchungen mit den älteren Anschauungen von dem Schwunde des Organs gebrochen. Er zeigte, dass die Thymus viel länger, als man bisher annahm, persistiere, dass beim normalen, gut genährten Individuum noch bis in die vierziger Jahre ein produktives Organ vorhanden sei, das erst von dieser Zeit an eine fortschreitende Verödung seines Parenchyms erleide. Den Höhepunkt der Entwicklung der Thymus verlegt Hammar in die Pubertätsperiode, wo früher die Thymus schon als nicht mehr funktionierend angesehen wurde.

Einen ganz anderen Standpunkt in bezug auf die Beurteilung der Thymuselemente nimmt Stöhr (05, 06, 10) ein. Nach ihm sind die „kleinen Thymuszellen“ Abkömmlinge der ursprünglichen epithelialen Anlage, also echte Epithelzellen. Sie sähen zwar in ihrem morphologischen Habitus den Lymphozyten des gewöhnlichen lymphozytären Gewebes sehr ähnlich, könnten aber eben wegen ihrer epithelialen Abkunft nicht mit ihnen identisch sein. Die Einwanderung von Lymphozyten in die Thymus wird von Stöhr bestätigt (10), dieser Vorgang sei jedoch für das Verständnis der Funktion des Organs ein ganz unwesentlicher Punkt; die Rindensubstanz bei den Säugetieren entwickle sich vielmehr autochthon aus Epithelzellen, ein Prozess, der durch die früh einsetzende Einwanderung echter Lymphozyten mehr oder weniger verdunkelt werden könne. Auch gibt Stöhr zu, dass die Thymus Lymphgefäße enthalte und dass dadurch Leukozyten zugeführt werden

könnten, allein er erblickt darin keinen Beweis, dass Leukozyten auch im Organe selbst produziert würden.

In einer späteren Arbeit hebt Hammar (07) im Gegensatz zu den Stöhrschen Ausführungen nochmals hervor, dass die kleinen Thymuszellen gerade in ihren morphologischen und biologischen Merkmalen mit denjenigen Zellen übereinstimmen, die man an anderen Orten des tierischen Körpers als typische Lymphozyten bezeichnet: sie besitzen wie die Blutlymphozyten basophiles Protoplasma, sind amöboid beweglich und stimmen auch darin mit den Lymphozyten überein, dass sie durch Röntgenbestrahlung zerstört werden und verschwinden, wodurch eine epitheliale Randschicht hervortrete.

Einen wesentlichen Fortschritt in der Thymusfrage brachten nun in der Folge die jetzt abgeschlossen vorliegenden Arbeiten Maximows über die Histogenese der Thymus. Bei allen von ihm untersuchten Tierklassen, den Säugetieren (09), Amphibien (12a), sowie Selachiern (12b), stellte Maximow eine völlige Übereinstimmung in der Entwicklung der Thymus fest. Es wandern nämlich nach ihm schon sehr früh in die epitheliale Anlage amöboid bewegliche Zellen ein, die mit den grossen lymphozytären Zellen jener Entwicklungsperiode durchaus identisch sind. Diese Elemente sind mesenchymatösen Ursprungs. „Kleine Lymphozyten“ sind zu dieser Zeit in der Thymus noch nicht festzustellen, wie sie auch im übrigen Organismus noch nicht angetroffen werden. In der späteren Entwicklung werden in der Thymus wie auch sonst diese grossen lymphozytären Elemente die Mutterzellen der kleinen Lymphozyten. Die lymphoiden Elemente bilden im wesentlichen die Rindenschicht und vermehren sich selbständig weiter. Da die so gebildeten Zellen in die Zirkulation und in das Bindegewebe gelangen, so unterscheidet sich die Thymus ihren Produkten nach nicht von anderen Organen mit lymphozytärem Charakter. In bezug auf ihre embryonale Entstehung nimmt sie freilich eine ganz besondere Stellung ein, weil sie gebildet wird aus der innigen Durchwachsung zweier sich sonst fremder Elemente, den Epithelzellen und den Mesenchymzellen. Auf dem gleichen Standpunkt steht auch Jolly (13) in seiner neuesten Publikation, die eine Zusammenstellung aller jener Organe und Gewebe aufweist, welche auf dieselbe Art und Weise entstanden sind.

Schon früher hatten einzelne Autoren behauptet, dass ein grundsätzlicher Unterschied zwischen den Zellen des Marks und denjenigen der Rinde bestehe, weil nämlich erstere sich hauptsächlich aus epithelialen Elementen zusammensetzten, während die Thymusrindenzellen Elemente lymphozytärer Natur seien.

Auf Grund morphologischer und physiologischer Vergleiche schliesst Laurell auf die Identität der kleinen Thymuszellen und Lymphozyten. Ein Unterschied besteht nach seiner Ansicht nur darin, dass die Thymuslymphozyten etwa $0,5 \mu$ kleiner seien als die des Blutes und des lymphoiden Gewebes. Sobald sie einmal die Rinde verlassen hätten, erreichten sie jedoch die gleiche Durchschnittsgrösse wie die an anderen Orten gebildeten lymphozytären Elemente. Eine gewisse Rolle als blutbildendes Organ spielt die Thymus auch nach der Ansicht von Letulle und Nattan-Larrier, sowie Roger und Ghika; ebenso weist Ver-Eecke nach, dass eine völlige Übereinstimmung in der Form und Bewegungsfähigkeit zwischen Thymuslymphozyten und den Zellen anderer lymphatischer Gewebe bestehe. Er hält es für sicher, dass die Thymus wie die Milz und die Lymphdrüsen als lymphopoietisches Organ angesehen werden muss, während Watney (82) dies nur als wahrscheinlich erklärt. Affanassiew und v. Braunschweig bestreiten zwar nicht, dass die Thymus ein lymphozytäres Organ sei, aber nach ihrer Ansicht soll sie nur während des intrauterinen Lebens funktionieren.

Wieder eine andere Auffassung vertritt Mietens (08, 10). Die mesenchymatöse Abkunft der Thymusrindenzellen hält er für gewiss, aber nach seiner Auffassung sollen sich diese in das Epithel eingewanderten Elemente immer mehr vom Habitus der Lymphozyten entfernen und schliesslich nicht mehr von der grossen Masse der Thymuszellen unterscheidbar sein.

Die Stöhrsche Ansicht vom epithelialen Ursprung der kleinen Thymuszellen vertreten Cheval, Dustin (09, 11) und Marcus (08), letzterer jedoch mit der Abweichung, dass sich die Epithelzellen der fertig entwickelten Thymus durch unvollständige Kernteilung der kleinen Thymuszellen bilden. Auch Basch, Fritsche, de Meuron stehen auf dem Standpunkt Stöhrs.

Eine Kombination der im vorhergehenden entwickelten Anschauungen vertritt vor allem Schaffer (Schaffer und Rabl

[09a, b]), er nimmt an, dass sämtliche Thymuszellen epithelialen Ursprungs seien, hält aber zu gleicher Zeit die Rindenelemente der Thymus für Lymphozyten. Es vermögen also nach ihm echte Epithelzellen in Elemente von lymphoidem Zellcharakter überzugehen. Zu diesem Ergebnis kommt er auf Grund seines Studiums der Rückbildungserscheinungen der Brustthymus des Maulwurfs. Der Schwund der Thymusanlage wird hier nämlich hauptsächlich durch eine Auswanderung der kleinen Rindenzellen verursacht. Dieser Umstand „würde aber auch gegen eine kurz vorher stattgehabte Einwanderung der kleinen Rundzellen und für ihre autochthone Entstehung aus den Epithelzellen sprechen“. Die Halsthymus des Maulwurfs zeigt in diesem Stadium „ein so überwiegend lymphoides Aussehen, ein solches Zurücktreten der epithelialen Elemente, dass man bei Vergleich der Masse an epithelialer Anlage beim 16 mm langen Embryo eine Umwandlung eines guten Teiles der letzteren in Lymphozyten für sehr wahrscheinlich halten muss“. Diese Umwandlung ist auch nach Maurer (88, 02), Prenant (94), Ghika, Bell, Magni, O. Schultze, Fox, Rabl und Saint-Remy et Prenant wahrscheinlich. Auch Retterer steht auf dem gleichen Standpunkt, aber nach ihm besitzen die Thymusrindenzellen einen ganz anderen morphologischen Wert als die lymphoiden Zellen mesodermaler Abkunft.

Ausser den „kleinen Rindenzellen“ enthält die Thymus aber noch andere, besondere Zellelemente, von denen namentlich die eosinophil granulierten in der Literatur öfters Erwähnung fanden. Schaffer (91) und v. Braunschweig haben ihr Vorkommen gleichzeitig, der eine in der menschlichen Thymus, der andere bei der Ratte, zum ersten Male festgestellt. Aus der Darstellung, die Watney (78) schon früher von seinen „granular cells“ gegeben hat, geht nicht mit Klarheit hervor, ob darunter wirklich eosinophile Zellen zu verstehen sind.

Die Auffassung von der Entstehung und Bedeutung dieser Zellen variiert in der Folge beträchtlich. Nach Hammar (05) sind sie ganz zufällige Bestandteile der Thymus, auch Bell (06) und v. Ebner registrieren lediglich ihr Vorkommen. Von grösserer Wichtigkeit erscheinen sie dagegen Schaffer (Schaffer und Rabl [09]). Nach seiner Auffassung entstehen sie aus gewöhnlichen Thymuszellen durch Aufnahme eosinophiler Körnchen. Ihre

Menge sei abhängig vom Involutionzustande des Organs, und zwar nehme ihre Zahl bei der Involution zu, bei rasch einsetzendem Involutionsprozesse träten sie besonders reichlich auf. Aus der Tatsache, dass sie in der vollvegetierenden Thymus fast ganz fehlen, ebenso in dem am stärksten involvierten Organ, zieht er den Schluss, „dass sie mit der Fortschaffung epithelialer Zerfallsprodukte in Zusammenhang stehen“. Nicht alle eosinophilen Körnerzellen betrachtet Schaffer aber als gleichwertig. Solche „Phagozyten“ seien nur jene Elemente „mit groben, oft unregelmässigen Körnern oder manchmal auch Kügelchen“. Körnchen, die in Grösse wie in Färbbarkeit genau mit den Granulationen der eosinophilen Zellen übereinstimmen, beobachtete er auch in freiem Zustande massenhaft in der Umgebung jener Elemente. Ihr Auftreten bringt er mit der Thymusinvolution in Zusammenhang. Die eosinophilen Körnerzellen erklärt er also als gewöhnliche Thymuszellen, welche diese mit Eosin färbbaren Körnchen aufgenommen hätten.

Auf denselben Standpunkt stellt sich Levin. Auch er lässt diese Zellen durch Aufnahme von Granulationen aus Thymuszellen hervorgehen. Auf die Identität der eosinophilen Zellen mit den eosinophilen Leukozyten der Milz und des Knochenmarks macht Ghika aufmerksam. Er hat sie bei menschlichen Embryonen von 4 Wochen sowie von 5 Monaten beobachtet. Sie liegen nach ihm an der Peripherie der Läppchen, besonders in der Umgebung der Gefässe und dringen mit diesen zwischen die Follikel vor. In der Thymus der erwachsenen Ratte sah er sie ebenfalls. Von der Tatsache ausgehend, dass diese Zellen bei Infektionen sich enorm vermehren und dabei zahlreiche Mitosen auftreten, erklärt Ghika die Thymus als ein Organ, das — wenn auch nur zeitweise — hämatopoïetische Funktion annehmen könne.

Nach Barbano sind die eosinophilen Zellen „als Thymuszellen zu betrachten, die sich in besonderer Weise differenziert haben“. Von den echten polymorphkernigen eosinophilen Leukozyten unterschieden sie sich nach ihm durch ihre ausserordentlich verschiedenen Dimensionen, durch ihre Granulationen, „die feiner, dichter, zarter und quantitativ unbeständiger sind als die der eosinophilen vielkernigen Elemente“. Die einzige Identität, die festzustellen wäre, sei die „chromatische Reaktion“ ihrer Kerne. „Die eosinophilen Elemente der Thymus“, führt Barbano aus,

„sind alle einkernig, der Kern liegt fast immer in der Mitte der Zelle und weist nur hier und da eine leicht exzentrische Lage auf, meist ist er kreisrund, zuweilen zweilappig und erscheint in bezug auf seine Dimensionen und das strassenartige Aussehen seiner chromatischen Zeichnung identisch mit dem Kern der kleinen Thymuszellen, mit denen sowohl die eosinophilen Zellen, die längs der Follikelränder zerstreut liegen, wie auch die eosinophilen Zellen, die die perivaskulären Herde bilden, ganz bestimmt in einer Ursprungsbeziehung stehen. Ich stütze diese Ansicht jedoch nicht allein auf die morphologischen Eigentümlichkeiten des Kernes, denn sieht man aufmerksamer zu, so wird man tatsächlich entdecken, dass viele dieser Zellen . . . nach und nach sich mit feinsten punktförmlichen Körnchen füllen, während ihr Protoplasma immer reichlicher wird und so schliesslich in einigen Elementen ziemlich bedeutende Dimensionen erlangt, die dann eine grosse Ähnlichkeit mit den wahren eosinophilen Markzellen bekommen. Meine Präparate sprechen eine zu deutliche Sprache, indem sie mir die verschiedenen Übergangsformen von einer Zellform zur anderen darbieten, als dass ich in bezug auf den histologischen Ursprung der eosinophilen Zellen der Thymus noch irgend einen Zweifel haben könnte: sie sind nichts anderes als derartig differenzierte Thymuszellen“.

Auf einem anderen Standpunkte steht Schridde (11a). Er betrachtet die eosinophilen Zellen der Thymus als echte Leukozyten, die aber aus dem Blute eingewandert seien. Gegen ihre autochthone Bildungsweise spricht nach ihm, „dass sie durchweg aus gelappt-kernigen Leukozyten bestehen, dass man diese Zellen . . . stets auch in den Blutgefässen nachweisen kann und dass es ferner gelingt, die gleichen Zellen auch auf der Durchwanderung durch die Gefässe festzustellen“. Ausserdem spreche die Tatsache dagegen, dass die Zellen nur vorhanden sind bei gleichzeitiger Ausbildung des Rindenparenchyms. Was die Art ihres Vorkommens betrifft, so kommt Schridde zu dem Ergebnis, dass es zwei Arten von Menschen gäbe: solche, bei denen die eosinophilen Zellen im 12. Jahre verschwinden und auch die Thymus ihre Funktion einstellt und solche, wo die Thymus zeitlebens funktioniert und auch weiterhin eosinophile Zellen enthalte.

Von der Vogelthymus sagt Lewis, dass ihre eosinophilen Zellen Leukozyten seien, die eingewandert wären und augen-

scheinliche Zeichen der Degeneration aufwiesen. Bei Rattenembryonen hat Maximow (09) in der Thymus Myelozyten beobachtet, die zum Teil nach Eosin-Azur rote Granulationen enthielten. Er erklärt sie als „dieselben primitiven Leukozyten, wie sie auch sonst an vielen Stellen des Körpermesenchyms aus den lymphozytoiden Wanderzellen entstehen“. Beim Axolotl hat er im perithymischen Bindegewebe die gleiche Entstehungsart beobachtet, er identifiziert diese Elemente hier aber nicht mit Sicherheit mit den richtigen acidophilen Leukozyten dieser Tiere. Mit diesen zusammen könnten sie schliesslich in die Thymus gelangen. Die Möglichkeit, dass innerhalb der Thymus ein Lymphozyt durch Aufnahme von eosinophilen Granulationen zu einem acidophilen Myelozyten und Leukozyten werden könne, gibt Maximow ebenfalls zu.

Als „Nebenbefund“ erwähnt Sultan das Vorkommen eosinophiler Zellen in der Thymus eines 2 monatlichen Kindes und eines Embryos von 5 Monaten, ohne weiter auf ihre Natur einzugehen. Bei einem 20 cm langen Fötus beobachtet Tuve zwei Arten von eosinophilen Zellen innerhalb der Rinde wie des Marks, sowie an der Grenze zwischen beiden. Er findet „Zellen mit hellem, grossem, bläschenförmigem Kern bis zu solchen, die kleinen Lymphozyten gleichen“. Mitosen hat er häufig konstatiert. In einzelnen Zellen stellt er fest, dass sie nur zum Teil mit eosinophilen Körnchen erfüllt sind. Solche Formen beschreibt auch Markus (07), bei Gymnophionen hat er alle Übergänge beobachtet von der Zelle, an deren Peripherie sich vereinzelte eosinophile Brocken finden, bis zu den Elementen, deren Protoplasma ganz mit solchen Körnern erfüllt ist. In diesen eosinophilen Zellen sieht Markus im Zustande der Depression befindliche Thymuselemente, die diese Eigenschaft mit den echten eosinophilen Leukozyten teilen. Eine Identität beider Formen bestände aber nicht.

In der pathologisch veränderten Thymus konstatieren Roger et Ghika das Vorkommen von mono- und polynukleären eosinophilen Leukocyten; Dudgeon (05) beschreibt für die Gravesche Krankheit (Graves' Disease) in der vergrösserten Thymus der Kinder vier Arten von eosinophilen Zellen und zwar solche mit dunklen, mit hellen sowie mit Übergangskernen und endlich die echten polymorphkernigen eosinophilen Blutzellen.

Zur Entscheidung der Frage, ob wir in den kleinen Thymuszellen wirklich lymphoide Elemente vor uns haben, sind diejenigen Befunde von besonderer Wichtigkeit, die für eine weitere Differenzierungsmöglichkeit dieser Zellen sprechen. So hat Barbano darauf aufmerksam gemacht, dass in der Thymus des Menschen Plasmazellen vorkommen; sie entstünden hier aus den Rindenzellen dadurch, „dass die Protoplasmen dieser Zellen reichlicher werden und weniger intensiv färbbar“. Vor allem aber ist es Schaffer (08), der in der Thymus der weissen Ratte das reichliche Vorkommen von Plasmazellen beschreibt, die aus einer Umwandlung der Thymuszellen hervorgehen. Er erblickt in diesem Befunde einen sicheren Beweis für den lymphozytären Charakter der kleinen Rindenzellen und bringt das Auftreten der Plasmazellen in Verbindung „mit der Fortschaffung des bei der Thymusinvolution so reichlich auftretenden Zelldetritus“. In geringerer Menge fanden sie sich auch bei der Maus, dem Hunde und dem Menschen. Bei der Involution der Maulwurfsthymus kommen, wie Schaffer und Rabl (09) festgestellt haben, die Plasmazellen in reichlicher Menge vor. Sie entstehen hier durch Hypertrophie der kleinen Rindenzellen, welche Tatsachen für die Autoren der sicherste Beweis für die Lymphozytennatur dieser Elemente sind, „seien sie nun epithelialen oder mesodermalen Ursprungs“.

Andere Umwandlungsformen, welche die Thymuszelle eingehen könnte und die für ihren lymphozytären Charakter sprächen, wären neutrophile Leukozyten und Mastzellen, über deren Vorkommen aber erst spärliche Angaben vorliegen:

Ghika erwähnt mono- und polynukleäre neutrophile Elemente sowie Mastzellen, die Roger-Ghika auch in der pathologisch veränderten Thymus konstatierten. Ferner fand Maximow (09) bei einem Rattenembryo von 19 mm polymorphkernige Zellen, deren Protoplasma nach Eosin-Azur-Färbung keine Granulationen erkennen liess und die er als spezialgranulierte Leukozyten ansieht. Endlich schildert Barbano Zellen, deren „Protoplasma von Körnchen, die mit Pyronin oder Neutralrot gefärbt, eine mehr oder weniger glänzende rote Farbe annehmen, so vollgestopft ist, dass sie den Kern vollständig oder fast vollständig verdecken, der sich übrigens morphologisch genau so darbietet, wie der der kleinen Thymuszellen“. In ihnen sieht er das „letzte definitive Bild, auf das die eosinophilen Zellen nach langsamer,

gradweiser Veränderung in der Reaktion ihrer Körnchen hinauskommen“.

Befundbeschreibung.

I. Ratte.

a) Eosinophile Zellen.

Um zunächst die Frage zu entscheiden, ob die eosinophilen Zellen der Thymus wirklich typische Leukozyten sind, wie sie sich im Knochenmark, im Blute oder sonst im Organismus finden, haben wir die Ratte als Untersuchungsobjekt gewählt, weil gerade dieses Tier charakteristische Besonderheiten in der Morphologie seiner leukozytären Blutelemente zeigt.

Es ist nämlich schon lange bekannt, dass die Kerne der eosinophilen Leukozyten der Ratte geschlossene Ringe darstellen. So beschreiben Kanthack und Hardy ihre Kerne als rund „with a large hole in the centre“. Ebenso spricht Hirschfeld von „geschlossenen Ringkernen“; und Jolly (00) bezeichnet sie als „arrondi ou ovulaire, réniforme, troué ou annulaire, quelquefois en bissac ou formé en deux noyaux“. Maximow (06) schildert den Kern als einen dicken, ringförmigen Strang, der sehr oft im Blutpräparat die Form einer 8 annähme. Damit stimmen die Beobachtungen Weidenreichs (08b) überein: „Die Kerne sind ausgesprochene Ringkerne, im Zentrum des Ringes liegt scheinbar der Zentralkörper. Die Kernmasse, die den Ring bildet, ist bald breiter, bald schmaler, der vom Kern umgrenzte Protoplasmateil ist entsprechend grösser oder kleiner. Der Ring ist aber nicht immer absolut kreisförmig; er kann mehr Dreieckform zeigen oder in die Länge gezogen sein; nicht selten beschreibt die Kernmasse eine Achter-Tour. Im ganzen ist der Kern überall von gleicher Breite die Konturen sind im allgemeinen regelmässig.“ Die Ringform dieser Kerne ermöglicht also die Differentialdiagnose zwischen den Leukozyten der Ratte und anderen, ähnlich granulierten Körperzellen, weil eben nur jene diese merkwürdige Kernform besitzen.

In jedem Schnitt durch die Thymus erwachsener Ratten findet man nun in wechselnder Zahl Zellen, die bei Färbung mit Hämalaun-Eosin oder der Giemsa'schen Lösung typische eosinophile Granulationen aufweisen. Was den Ort ihres Vorkommens betrifft, so finden sie sich meistens in der Rindenzone und zwar

an der Peripherie der Läppchen, dann aber auch an der Grenze zwischen Rinde und Mark, sowie sehr oft in dem die Läppchen umgebenden Bindegewebe. Im eigentlichen Marke kommen sie ebenfalls, jedoch ziemlich selten vor. Die Zellen liegen entweder einzeln oder aber meist in Haufen beieinander und zwar in Form von Strängen (Fig. 1), die sich in mehr oder weniger langen Streifen zwischen die anderen Thymuszellen einbetten, oder in Form unregelmässiger Herde (Fig. 2). Häufig, aber nicht immer, trifft man sie in der Nachbarschaft von Gefässen.

Das Protoplasma der Zellen ist reichlich und zeigt keine auffallenden Besonderheiten in seinem Färbungscharakter. Die Granulationen liegen ziemlich dicht und füllen den Zelleib vollständig aus. Seltener sind solche Zellen, in denen die Granula in der Nähe des Kerns eine Stelle freilassen, die dann wie eine Art Vakuole erscheint. Formen, wie sie Tuve, Marcus (08), Barbano beobachtet haben, wo die Zellen nur an der Peripherie Körnchen enthalten oder nur zum Teil mit ihnen angefüllt sind, haben wir bei der Ratte nicht auffinden können. Die Körnchen färben sich mit sauren Farbstoffen, Eosin z. B., leuchtend rot und erscheinen in Form kleiner, regelmässig konturierter, meist gleich grosser kugelliger Gebilde.

Besonderes Interesse bietet der Kern. Er liegt meist exzentrisch (Fig. 3 emy), kann aber auch, besonders wenn das Protoplasma weniger reich entwickelt ist, die Mitte der Zelle einnehmen. Sehr viele Formen weisen einen runden bzw. kugeligem (Fig. 1 emy) oder auch mehr ovalen Kern (Fig. 2 emy₁, 3 emy) auf. Nukleolen finden sich meist (Fig. 3 emy), fehlen aber auch sehr oft. Der Chromatingehalt dieser Kerne ist verhältnismässig gering; darum erscheinen sie ziemlich blass und hell. Das Chromatin ist entweder in ziemlich ungleichmässigen Schollen über den ganzen Kern verteilt (Fig. 1 emy₁) oder bildet ein zierliches Netzwerk dünner Fäden (Fig. 3 emy). Ausser diesen hellen, bläschenförmigen Kernen trifft man aber noch solche, die in ihrem Chromatingehalt bedeutende Abweichungen zeigen. Ihre Kernsubstanz färbt sich nämlich im ganzen infolge ihres vermehrten Gehaltes an chromatischen Bestandteilen wesentlich dunkler (Fig. 1 emy₂); dazu kommt noch, dass diese Kerne stärker mit chromatischen Schollen angefüllt sind. Zwischen solchen extremen Kernformen, den hellen, chromatinarmen und den

dunklen, chromatinreicheren Kernen findet man alle Übergänge. Eine sehr charakteristische Erscheinung stellen solche Kerne dar, die in ihrem Zentrum einen hellen, nukleolenartigen, scharf begrenzten runden Fleck aufweisen (Fig. 1 emy₂, emy₃; 2 emy₂). Mit Kernfarbstoffen sind diese Flecken nicht tingibel, wohl aber färben sie sich im Tone des Zellprotoplasmas, bei Eosinfärbung z. B. schwach rosa. Die Betrachtung solcher Kernbilder von der Seite (Fig. 1 emy₄) ergibt, dass es sich hierbei um Einstülpungen des Protoplasmas nach der Kernmitte zu handelt, die von oben gesehen wie ein ausgestanztes Loch erscheinen. Es handelt sich also um eine lochförmige Durchbrechung des Kernes, wodurch er aus seiner ursprünglichen kugeligen Form in eine mehr oder weniger weite Ringform übergeführt wird. Neben Kernformen, in denen diese Lochbildung kaum angedeutet erscheint (Fig. 1, 2 emy₂) trifft man dementsprechend auch solche mit viel grösseren Löchern (Fig. 1 el). Die ausgebildeten Ringkerne zeigen natürlich von der Seite gesehen oder im Durchschnitt biskuitähnliche Form (Fig. 4 el), die erst in der Bildung begriffenen, lediglich eingestülpten Kerne charakteristische Nierenformen (Fig. 1 emy₄).

Welcher Natur sind nun diese Zellelemente? Vergleicht man die zuletzt beschriebenen Zellformen mit ihren typischen Ringkernen mit den Zellen des Rattenblutes, so ergibt sich eine völlige Identität zwischen ihnen und den eosinophilen Leukozyten. Neben dem Ringkern, der in Grösse, Lagerung und Form, sowie in der Struktur und der Menge seines Chromatins mit den Kernen jener Leukozyten völlig übereinstimmt, sind es auch die Granulationen selbst, die in ihren morphologischen Merkmalen und in ihrer Farbenaffinität keinerlei Unterschiede gegenüber der Körnelung der eosinophilen Leukozyten erkennen lassen. Man braucht nur in der Thymus selbst die eosinophilen Leukozyten, die innerhalb der Blutgefässe liegen, mit den im Gewebe gefundenen, oben beschriebenen Formen zu vergleichen, um diese Übereinstimmung feststellen zu können.

Wenn wir andererseits die eosinophilen Zellen, die grosse, kugelige, helle oder dunkle Kerne enthalten, mit den in den blutbildenden Organen, besonders im Knochenmark vorkommenden Elementen vergleichen, so ergibt sich ohne weiteres, dass jene Zellen der Thymus als typische eosinophile „Myelozyten“ aufzufassen sind.

Weiterhin folgt aus unseren Befunden, dass zwischen diesen als Myelozyten zu bezeichnenden Elementen und denen vom Typus der eosinophilen Leukozyten in der Thymus selbst genetische Beziehungen bestehen. Denn neben den Formen mit ausgebildetem Ringkern (Fig. 1 el) trifft man Elemente, die erst eine Andeutung des „Lochkernes“ zeigen (Fig. 1 emy₂, emy₃). Diese Formen leiten wieder zu den myelozytären Elementen mit kugeligem Kern über. Auf dem Wege der Umbildung des Kerns wandeln sich also in der Thymus die Myelozyten in typische „polymorphkernige“ eosinophile Leukozyten um. Dabei bleibt das Protoplasma sowohl wie die Granulierung unverändert.

Innerhalb der Herde eosinophiler Zellen oder auch vereinzelt findet man nun aber auch die eosinophil granulierten Elemente in mitotischer Teilung. Ihr Protoplasma ist dabei wie das Plasma der anderen acidophilen Elemente mit eosinophilen Körnchen vollgepfropft. Und zwar werden alle Stadien der Mitose angetroffen, von denen wir uns hier mit der Wiedergabe eines Monasters (Fig. 1 m, 2 m), sowie eines Diasters (Fig. 4 m) begnügen. Die Kernbilder sind so deutlich und charakteristisch, dass an ihrer mitotischen Natur nicht zu zweifeln ist. Dabei sind die Mitosen keineswegs selten, sondern unter Umständen sogar ein verhältnismässig häufiger Befund. Damit ist also bewiesen, dass in der Thymus eine Vermehrung der eosinophilen Elemente durch mitotische Kernteilung statthat.

b) Spezialleukozyten.

Ausser diesen eosinophil granulierten Zellen findet sich in der Thymus nun noch eine andere Art von Elementen, die ebenfalls gruppenweise auftreten. Diese Zellen liegen gleichfalls in kleineren Häufchen im Gebiet der Thymusrinde und bevorzugen, wie es scheint, auch hier die äusserste Zone gegen das Bindegewebe hin (Fig. 6, 7). Durch ihren grösseren Umfang unterscheiden sie sich ohne weiteres von den umliegenden Thymuszellen. Ihre Kerne sind sehr gross (Fig. 6, 7 smy₂) und nehmen eine ausgesprochen zentrale Lage ein. Meist scheinen sie von der Fläche gesehen kreisrund (Fig. 6 smy₂, 3), in der Kantenansicht nierenförmig (Fig. 6 smy₄). Ihr Gehalt an Chromatin ist meist gering. Besonders charakterisiert sind aber diese Kernelemente dadurch, dass sich genau in der Mitte — bei der Betrachtung von

der Fläche her — ein scharf begrenzter kreisrunder, nukleolenartiger Fleck findet (Fig. 6 smy_{2, 3}; 7 smy_{1, 2}), der sich bei Giemsa-Färbung blassrot tingiert; in der Seitenansicht des Kernes (Fig. 6 smy₄; 7 smy₃) erscheint der Fleck als eine zentrale Eindellung bzw. als Durchbohrung des Kernes. Es besteht also kein Zweifel, dass hier genau die gleichen Verhältnisse vorliegen wie bei den eosinophilen Zellen, d. h. dass die Kerne in der ausgeprägten Form Loch- bzw. Ringkerne darstellen. Neben solchen Ringkernen, in denen die Höhlung noch sehr klein erscheint (Fig. 7 smy₁), finden sich grössere, in denen die Höhlung den Kern durchsetzt (Fig. 7 smy₃). Diese ausgesprochenen Ringkerne leiten über zu anderen Kernformen, die gleichfalls in derselben Zellgruppe angetroffen werden, nämlich zu stark segmentierten und kleineren Kernen, die im ganzen von der Fläche gesehen noch die Ringform beibehalten (Fig. 6 sl₁), oder aber bei stärker vorgeschrittener Segmentierung aus einem unregelmässigen Haufen von Kernfragmenten zu bestehen scheinen (Fig. 6 sl₂). Abgesehen von dem Verhalten des Protoplasmas unterscheiden sich dadurch diese Zellformen von den Kernen der eosinophilen Elemente, bei denen der Ring stets unsegmentiert nachweisbar bleibt.

Sehr eigentümlich ist das Verhalten des Protoplasmas bei diesen Zellen. Bei den ausgesprochenen Ringkernen umgibt es den Kern als schmalen, homogenen, deutlich basophilen Saum von gleicher Breite (Fig. 6 smy_{2, 3}; 7 smy_{1, 2}), färbt sich also bei Giemsa-Färbung in einem blauen Tone. Die zentrale Plasma-depression dagegen zeigt bei dieser Färbung, wie schon hervorgehoben, eine rötliche Tinktion, also acidophilen Charakter, was besonders auch bei der Kantenansicht des Kernes in die Augen fällt (Fig. 6 smy₄; 7 smy_{3, 4}). Mit der zunehmenden Kernsegmentierung nimmt die Basophilie des Protoplasmas ab und die Acidophilie zu, so dass die Zellen mit den oben geschilderten Kernfragmenten im ganzen einen roten Ton annehmen (Fig. 6 sl_{1, 2}). Granulationen konnten in diesen Zellen mit den angewandten Fixations- und Färbungsmethoden nicht nachgewiesen werden.

Fragt man nun, welcher Natur diese Zellen sind, so scheint es nicht zweifelhaft, dass es sich hierbei um Spezialleukozyten der Ratte handelt. Dafür sprechen vor allem auch hier die Ringkerne, die gerade in ihrer Fortbildung zu segmen-

tierten Formen ein Charakteristikum dieser Leukozyten darstellen, worauf Hirschfeld, Maximow (06), Weidenreich (08b) aufmerksam gemacht haben. Dass Granulationen mit den angewandten Methoden nicht nachzuweisen sind, steht mit den Erfahrungen über diese Elemente bei der Ratte durchaus im Einklang, da es bisher nur gelang, sie an Ausstrichpräparaten des Blutes — und auch hier nicht konstant — zur Darstellung zu bringen, nicht aber an Schnittpräparaten.

Ein Vergleich zwischen den Formen des Blutes mit segmentierten Ringkernen und den Elementen des Thymusgewebes ergibt ihre völlige Übereinstimmung, und eine Kontrolle des Knochenmarks zeigt, dass die sogenannten Myelozyten der Spezialleukozyten in ihren Kernformen mit den grossen Elementen der Thymus, in denen die zentrale Durchlochung des Kernes eben aufzutreten beginnt, in allen Punkten identisch sind. Genau wie im Knochenmark, bestehen also auch in der Thymus alle Übergänge zwischen den Myelozyten und den „polymorphkernigen“ Spezialleukozyten. Die Zellen mit Myelozytentypus (Fig. 6 smy₁) wandeln sich auch hier in Formen mit exquisiten, zunächst noch kompakten Ringkernen (Fig. 6 smy₂; 7 smy₂) um, die dann ihrerseits wieder zu solchen mit fragmentierten Kernen (Fig. 6 sl_{1, 2}) werden.

Was das Vorkommen von Mitosen in diesen Zellen innerhalb des Thymusgewebes angeht, so ist diese Frage hier schwer entscheidbar. Zwar finden sich in der Zellgruppe der Spezialleukozyten häufig Kernteilungsfiguren, die dem allgemeinen Zellhabitus nach den Spezialleukozyten angehören dürften. Da aber hier die Granulationen fehlen und die für die Identifizierung charakteristische Ringform des Kernes im Stadium der Mitose selbstverständlich keinerlei Anhaltspunkte geben kann, so lassen sich diese mitotischen Figuren in ihrer Zugehörigkeit nicht sicher und in eindeutiger Weise bestimmen.

c) Mastzellen.

Die bei der Ratte so häufigen Mastzellen fanden sich lediglich im Bindegewebe, niemals dagegen im eigentlichen Rindengebiet der Thymus.

d) Plasmazellen.

Ausser den eosinophilen und Spezialleukozyten trifft man in der Thymusrinde noch besondere Elemente, die sich durch

charakteristische Merkmale von den umgebenden Thymuszellen leicht unterscheiden lassen. Dieselben sind im allgemeinen bei der Ratte nicht sehr reichlich vertreten, finden sich aber, wo sie vorkommen, meist in grösseren Herden vereinigt (Fig. 8). Vereinzelt sind sie seltener, werden aber doch ab und zu angetroffen (Fig. 6 pz). Sie liegen besonders in der äussersten Rindenzone, vielfach auf dieselbe allein beschränkt. Sie stellen grosse, protoplasmareiche Zellen dar, die im allgemeinen runde Form aufweisen und nur dort, wo sie in Haufen beisammen liegen, durch die gegenseitige Abplattung polyedrische Form annehmen (Fig. 8). Charakteristisch für diese Zellelemente ist das Protoplasma; es zeichnet sich neben seiner Reichlichkeit vor allem durch seine starke Basophilie aus und färbt sich dementsprechend bei Pappenheim'scher Methylgrün-Pyronin-Färbung leuchtend rot (Fig. 8), bei Giemsa-Färbung tiefblau (Fig. 6 pz.) Es ist undeutlich und oft verwaschen granuliert, ohne dass sich irgendwelche distinktere Einlagerungen erkennen liessen. Eine besondere Differenzierung findet sich aber fast regelmässig; alle diese Zellen zeigen nämlich in ihrer typischen Ausbildung ein helles, rundes, ziemlich gut begrenztes Feld, das unmittelbar neben dem Kern gelagert ist und sich durch seine geringe Farbenaffinität scharf von dem umgebenden Protoplasma abhebt (Fig. 8 pz; 6 pz). Der Kern der Zellen ist verhältnismässig klein, meist kreisrund, seltener oval und gewöhnlich exzentrisch gelagert. Meistens ist nur ein Kern vorhanden, jedoch kommen auch Zellen vor, welche zwei gleich grosse Kerne enthalten (Fig. 8). In den meisten Zellen zeigt der Kern eine charakteristische Anordnung der Chromatins, das dann in keilförmigen Schollen rings um die Kernmembran angeordnet erscheint (Fig. 8 pz₁₋₅; 6 pz.) und dem Kern damit das Aussehen eines sogenannten „Radkernes“ gibt. Durch diese typische Kernform, das Vorhandensein jenes hellen Fleckes im Protoplasma, der konstant unmittelbar neben dem Kerne liegt, sowie endlich durch das reichliche, stark basophile Protoplasma werden diese Zellelemente als typische Plasmazellen bestimmt und zwar solche vom Marschalkoschen Typus. Neben diesen charakteristischen Formen mit den genannten typischen Merkmalen trifft man aber noch in der gleichen Zellgruppe sehr oft solche Elemente, die eines dieser Charakteristika vermissen lassen oder wenigstens in nicht so ausgesprochenem Maße zeigen

(Fig. 8 brz 1, 2), und diese wieder leiten über zu kleinen protoplasmaarmen basophilen Zellen, die sich in nichts von den gewöhnlichen Thymusrindenzellen unterscheiden.

e) Thymusrindenzellen.

Die Rinde der Thymus wird in der Hauptsache von kleinen, runden Zellen gebildet — „kleine Thymuszellen“ (Stöhr), „Thymusrundzellen“ (Maurer, Schaffer) — die in grossen Mengen dicht beieinander liegen und, nur von kleinen Zwischenräumen unterbrochen, das ganze Rindengebiet erfüllen. Nach aussen setzen sie sich mit scharfer Grenze gegen das interlobuläre Bindegewebe ab (Fig. 4, 6, 7), im Mark sind sie nur vereinzelt nachweisbar; die Grenze gegenüber den Markzellen ist meist gleichfalls eine ziemlich scharfe. Die charakteristischen Rindenzellen sind kleine Elemente von kugelig (Fig. 6 rz₁), seltener ellipsoider Gestalt (Fig. 6 rz₂), in denen vor allem das Grössenverhältnis zwischen Kern und Plasma auffällt. Das Plasma ist stets in nur geringer Menge vorhanden und umgibt den Kern als schmalen, oft kaum sichtbaren Saum. Mit Methylgrün-Pyronin-Färbung tingiert es sich hellrosa (Fig. 8 rz), mit Giemsa-Gemisch blau (Fig. 6 rz; 7 rz), ist also in bezug auf seine Farbenspezifität deutlich basophil. Einlagerungen in das Protoplasma sind mit den üblichen Färbemethoden nicht nachweisbar. Der Kern liegt stets zentral und nimmt den grössten Teil der Zelle ein. Seine Form ist im allgemeinen rund, doch kommen auch ovale und leicht eingebuchtete Kerne vor. Mit basischen Farbstoffen nimmt die ganze Kernmasse einen sehr dunklen Farbenton an; die eigentliche chromatische Substanz erscheint dicht gedrängt in Form grober Schollen, die sehr häufig keilförmig der Kernmembran aufsitzen und dadurch den Eindruck eines „Radkernes“ hervorrufen, wie es für manche kleine Lymphozytenformen und speziell für Plasmazellen charakteristisch ist. Ein deutlich ausgebildeter oder wenigstens grösserer Nukleolus liess sich mit den angewandten Methoden in den kleinen Rindenzellen nicht mit Bestimmtheit nachweisen.

Neben diesen kleinen Elementen finden sich nun aber in der Rinde der Thymus auch noch grössere Formen, die jedoch zahlenmässig gegen jene zurücktreten (Fig. 1, 4, 5, 7 rzg). Sie liegen meist einzeln, seltener in kleinen Gruppen beisammen

und zwischen den kleinen Formen zerstreut. Wie bei diesen erscheint der Kern im Verhältnis zur Masse des Protoplasmas sehr gross, so dass die Gesamtgrösse der Zelle im wesentlichen durch das Volumen des Kernes bedingt wird. Das Plasma bildet auch hier nur einen schmalen Saum, der den Kern allseitig umgibt, und ist schwach basophil; Granulationen liessen sich nicht nachweisen. Einen nicht seltenen Befund stellen kleine protoplasmatische Abschnürungen dar, die sich vom Rande der Zelle in Form kugeligter Gebilde von wechselnder Grösse ablösen (Fig. 5 rzg) und dann als freie Gebilde zwischen den Zellen liegen bleiben (Fig. 5 fp). Der Kern dieser Zellen ist meistens rund, oft aber auch länglich oder oval. Er liegt im allgemeinen in der Mitte der Zelle, die er fast ganz erfüllt. Im Gegensatz zu den kleinen Rindenzellen färbt sich der Kern mit basischen Farbstoffen in seiner Gesamtheit viel weniger intensiv (cf. Fig. 5 rzg₁ mit rz). Die chromatische Substanz ist in Form feiner Bröckel oder Fäden über den ganzen Kern zerteilt. Nukleolen kommen vor (Fig. 5 rzg₂), fehlen aber sehr häufig.

Neben diesen grösseren Rindenzellen finden sich aber nun noch in wechselnder Zahl und ziemlich zerstreut ganz grosse Formen (Fig. 3 rzg, 5 rzgs, 6 rzg), die sich von den eben beschriebenen nur dadurch unterscheiden, dass ihr Kern ein beträchtliches Volumen erreicht, während das Plasma im Verhältnis nur wenig vermehrt ist. Den kleinen Thymuszellen gegenüber erscheinen sie als grosskernige, chromatinarme Zellen. Mit den Zellen des Markes haben diese Elemente nur die Kerngrösse gemein, unterscheiden sich aber von ihnen wesentlich durch den schmalen, basophilen Protoplasmasaum und die Anordnung des Chromatins.

Wesentlich ist, dass die beschriebenen kleinen und grossen Formen der Rindenzellen durch kontinuierliche Übergänge miteinander verbunden erscheinen.

Wie schon Schedel beschrieben hat, sind Mitosen in den Rindenzellen der Thymus ein überaus häufiger Befund. Sie liegen zumeist vereinzelt, umgeben von Thymusrindenzellen mit ruhendem Kerne, ohne dass sich eine bestimmte Vorliebe in der Lokalisation nachweisen liesse. Der Grösse nach werden sie in allen beschriebenen Formen der Rindenzellen angetroffen, also sowohl in den kleinen wie in den grossen Elementen. Dass die Mitosen

wirklich den Thymusrindenzellen angehören, geht daraus hervor, dass sie frei im Gewebe liegen und die gleiche basophile Farbensaffinität zeigen wie jene.

Ohne uns nun hier in eine eingehende kritische Erörterung der in der Literatur niedergelegten Ansichten über die eigentliche Natur der Thymusrindenzellen einlassen zu wollen, mag zunächst nur betont werden, dass wir in ihnen typische Lymphozyten sehen. Dafür spricht ihr ganzer morphologischer Habitus sowie auch besonders die beschriebenen Grössenvariationen: die kleinen Zellen mit schmalem, basophilem Plasmaleib und dunklem, chromatischem Kern, der sehr oft eine typische Radstruktur aufweist, entsprechen durchaus den „kleinen Lymphozyten“ des Blutes und des lymphoiden Gewebes; während die grösseren Elemente mit den lockerer strukturierten Kernen als mittelgrosse Lymphozyten und die ganz grossen Elemente als „grosse Lymphozyten“ zu betrachten sind. Dafür sprechen neben dem Verhalten des Kernes und seiner Chromatinanordnung vor allem auch jene Abschnürungserscheinungen basophiler Plasmateilchen (Fig. 5), wie sie Downey und Weidenreich an den Lymphozyten des typischen lymphoiden Gewebes beschrieben und abgebildet (Fig. 21) haben.

Die Tatsache, dass in der Thymus eine mitotische Vermehrung der Rindenelemente stattfindet, liess daran denken, nach keimzentrenähnlichen Bildungen wie in den Lymphdrüsen zu suchen. Jedoch liessen sich solche lokale Anhäufungen von Mitosen niemals nachweisen. Wir werden auf diese Frage noch später zurückkommen und dann auch noch näher zu untersuchen haben, in welcher Beziehung die Rindenzellen zu den typischen Plasmazellen und den oben beschriebenen granulierten Leukozyten, speziell den Myelozyten, stehen.

II. Mensch.

Die von uns untersuchten Thymen rührten von vier verschiedenen Individuen her, von denen drei (15, 17 und 19 Jahre) junge Individuen waren, und eines älter (37 Jahre) war. Alle waren völlig gesund und in bestem Ernährungszustande. Der 19- und 37-jährige waren hingerichtet worden, der 15- und 17-jährige plötzlich verunglückt. Den Altersverhältnissen entsprechend war der Involutionzustand der vier Thymen nach den von Hammar (06) festgestellten Tatsachen verschieden ausgebildet.

Die Thymus des 15- und 17jährigen zeigt ein vollvegetierendes Organ. Mark und Rinde bilden zusammenhängende, rundliche Läppchen, die sich scharf von dem umgebenden Bindegewebe abheben. Fett findet sich kaum. Rinde und Mark selbst sind deutlich voneinander getrennt; die Rindenzone ist sehr gut ausgebildet und nimmt etwa die Hälfte des ganzen Parenchyms ein. Die Hassalschen Körperchen sind gross und auffallend zahlreich. Die Thymusrindenzellen finden sich sehr häufig in Mitose.

Schon etwas verschieden hiervon ist das Bild, das die Thymus des 19jährigen darbietet. Das eigentliche Thymusgewebe hat an Ausdehnung abgenommen und erscheint in Form zusammenhängender schmaler Stränge oder Inseln, die alle noch aus der scharf voneinander getrennten Mark- und Rindensubstanz bestehen. Die letztere ist reichlich vorhanden und zeigt dasselbe Verhältnis zum Mark wie die Thymus des 17jährigen. Entsprechend dem teilweisen Schwunde des Parenchyms ist dagegen hier das Fettgewebe in reichlichem Maße entwickelt und nimmt einen breiten Raum zwischen den einzelnen Läppchen ein. Hassalsche Körperchen sind in grosser Zahl vorhanden und fallen häufig durch ihre beträchtlichen Dimensionen auf. Dass die Rinde auch hier neue Zellen bildet, folgt aus dem Befund zahlreicher Mitosen.

Den am weitesten vorgeschrittenen Involutionzustand weist die Thymus des 37jährigen auf. Das Parenchym ist in einzelne Inseln und schmale Stränge aufgelöst, die zum Teil ihren Zusammenhang völlig verloren zu haben scheinen oder wenigstens nur noch durch schmale Substanz-Brücken miteinander verbunden sind. Die grösseren Thymusreste lassen eine deutliche Trennung von Rinde und Mark erkennen; anders die kleinen Gewebsinseln: sie bestehen oft nur aus Rindensubstanz ohne eine Spur von Mark, welches seinerseits wieder ohne Beteiligung von Rindenelementen grössere isolierte Haufen oder Stränge bilden kann. Die Zahl der Hassalschen Körperchen ist auch hier eine hohe und ihre Grösse meist eine beträchtliche. Die Rindenzellen zeigen zahlreiche Mitosen. Die Reste des Thymusgewebes sind durch grosse Massen von Fettgewebe voneinander getrennt.

a) Eosinophile Zellen.

In jedem Schnitt der untersuchten Thymen finden sich eosinophil granulierte Zellen, bald mehr, bald weniger an der

Zahl; bald liegen sie mitten im Rindengebiet, bald an dessen Rande, wo sie besonders die in das Binde- oder Fettgewebe weit vorspringenden Buckel zu bevorzugen scheinen, oder aber an der Grenze von Rinde und Mark, seltener im Mark selbst. Man trifft sie entweder vereinzelt (Fig. 11 m) oder zu kleinen Herden vereinigt (Fig. 9). Die Zellen sind grosse Gebilde und übertreffen an Umfang die gewöhnlichen kleinen Thymuszellen beträchtlich; sie sind im allgemeinen rund, zeigen aber gelegentlich Fortsatzbildungen (Fig. 10⁵), die auf amöboide Bewegung hindeuten. Der Plasmaleib, der sich sehr schwach basophil färbt, ist mit groben, runden, glänzenden Körnern erfüllt, die sich mit Eosin intensiv rot tingieren. Die Grösse der Granula unterliegt in den einzelnen Zellen nur geringen Schwankungen. Sie nehmen den ganzen Zelleib ein bis auf eine in der Nähe des Kernes befindliche Stelle (Fig. 10⁵), die dem Mikrozentrurn entspricht und wohl stets von Granulationen frei bleibt. Bei gut gelungener Färbung lassen die Körner eine deutliche färberische Sonderung erkennen und zwar so, dass jedes Korn eine intensiver gefärbte periphere Zone aufweist (Fig. 10⁵).

In bezug auf den meist exzentrisch gelagerten Kern lassen sich kompaktkernige und gelapptkernige Formen unterscheiden. Erstere zeigen entweder einen verhältnismässig grossen kugeligen, manchmal auch ovalen Kern (Fig. 9 emy, 10⁵) oder einen ziemlich kleinen, gleichgestalteten Kern (Fig. 9 emy₁, 10³). Im ersteren Falle färbt sich die Kernmasse im ganzen nur unwesentlich und das Chromatin scheint in Form meist feiner Bröckel oder Fäden im Kern zerteilt. Die kleinen Kerne dagegen zeigen eine dunkle Gesamtfärbung, und das Chromatin ist mehr in groben Schollen konzentriert, wobei es gelegentlich Andeutungen einer Radstruktur erkennen lässt (Fig. 10³). Zwischen diesen beiden Typen finden sich jedoch alle Übergänge; auf ihre Bedeutung wird noch zurückzukommen sein.

Die Zellen mit kompaktem kugeligen bzw. ovalem Kern leiten zu solchen über, deren Kern nierenförmig gestaltet ist, also eine Eindellung erfahren hat (Fig. 9 el₁), und diese wieder zu Zellen mit zweig gelappten Kernen (Fig. 9 el₂). Die beiden meist gleich grossen Fragmente sind im letzteren Falle durch einen dünnen chromatischen Faden verbunden, so dass der Kern in typischer Zwerchsackform (el₂) erscheint. Auch Zellen mit zwei völlig getrennten Kernfragmenten kommen vor.

Aber noch ein anderer wesentlicher Befund lässt sich an den eosinophilen Zellen der Thymus erheben. Meist mehr vereinzelt, seltener inmitten eines grösseren Herdes liegend, findet man typische Mitosen, von denen wir eine besonders charakteristische im Monasterstadium hier wiedergeben (Fig. 11 m). Der Grösse der Zelle nach, sowie der der Chromosomen handelt es sich hierbei um eine Teilung der oben geschilderten grösseren Form der eosinophilen Zelle. Dass aber auch in den kleineren Typen Mitosen vorkommen, zeigt Fig. 10⁴; hier sind nur die Chromosomen kürzer und dicker, so dass die Kernfigur mehr einen verklumpten Eindruck macht. Die Mitosen der eosinophilen Zellen sind immerhin ein verhältnismässig seltener Befund.

Welcher Natur sind nun die eosinophilen Zellen der Thymus? Zur Beurteilung dieser Frage geben die Elemente mit den gelappten Kernen den besten Anhaltspunkt; denn es unterliegt für sie keinem Zweifel, dass sie mit den gewöhnlichen eosinophilen Leukozyten des strömenden Blutes identisch sind, für die die „Zwerchsackform“ des Kernes ein wesentliches Charakteristikum darstellt. Aber auch die Granulationen selbst stimmen nicht nur in Form, Grösse und Farbenaffinität mit denen jener Leukozyten überein, sondern sie zeigen auch eine Eigenart, die schon Ehrlich als bezeichnend für die Granula der eosinophilen Blutelemente beschrieben hat, nämlich die oben geschilderte Differenzierung in eine hellere zentrale Partie und eine dunklere Randzone (Fig. 10⁵). Nun sind aber die gelapptkernigen Formen durch alle Übergänge mit den kompaktkernigen Elementen verbunden. Diese letzteren stimmen aber in allen ihren morphologischen Merkmalen vollständig mit den sogenannten mononukleären eosinophilen Leukozyten des Knochenmarks, den eosinophilen Myelozyten, überein; speziell gilt das für die grossen Formen, wie wir sie in Fig. 9 emy und besonders Fig. 10⁵ hier wiedergegeben haben. Auf die Bedeutung der kleineren dunkelkernigen Elemente werden wir noch zu sprechen kommen.

Es ergibt sich also, dass die eosinophilen Zellen der Thymus typische Leukozyten sind, und dass sie je nach ihrer Kernform den typischen kompaktkernigen Myelozyten des Knochenmarks oder den gelapptkernigen „polynukleären“ Elementen des Blutes entsprechen.

b) Neutrophile Leukozyten.

Ausser den eosinophil granulierten Elementen findet sich in der menschlichen Thymus noch eine andere Art granulierter Zellen, die im allgemeinen ebenso häufig, meist aber in grösseren Gruppen und Herden (Fig. 12, 13) vorkommt. Sie liegen wie die eosinophil granulierten fast stets im Gebiet der Rinde, wo sie die äusserste Zone bevorzugen und hier sehr oft eine reihenartige Anordnung zeigen (Fig. 12). Es sind grosse Zellen mit reichlichem, schwach basophilem Protoplasma, das häufig pseudopodienartige Fortsatzbildungen erkennen lässt (Fig. 13 smy¹, 2), was auf eine lebhafte amöboide Bewegung hindeutet. In der Ruhe nehmen die Zellen mehr abgerundete Formen an (Fig. 12 smy; 10¹, 2).

Der Zelleib enthält zahlreiche feinste Granulationen, die bei Giemsa-Färbung den charakteristischen blavioletten Farbenton der neutrophilen Leukozytenkörnelung annehmen (Fig. 10¹, 2, 12, 13). Die Granula erscheinen als feine staubförmige Gebilde mit ziemlich regelmässigen runden Konturen. Von den eosinophilen unterscheiden sie sich, abgesehen von der Farbendifferenz, besonders dadurch, dass sie um ein beträchtliches feiner sind; auch liegen sie im allgemeinen lockerer als die acidophilen Granula, füllen aber den Zelleib ziemlich vollständig aus und lassen hier nur in der Nähe des Kernes eine helle, oft undeutlich begrenzte Stelle frei, die dem Mikrozentrum entspricht (Fig. 13 smy¹).

Der meist exzentrisch gelagerte Kern zeigt dieselben Form- und Strukturverschiedenheiten, wie sie für die eosinophilen Elemente geschildert wurden, d. h. man trifft sowohl kugelige, kompaktkernige Elemente, wie solche mit gelapptem, segmentiertem Kern. Im ersteren Falle lassen sich wieder zwei Typen unterscheiden, nämlich Zellen mit einem grossen bläschenförmigen Kerne (Fig. 10²; 13 smy¹, 2), der in seiner Gesamtheit nur wenig Farbe annimmt und in dem die chromatische Substanz in Gestalt feiner Bröckel oder Fäden verteilt erscheint, und Zellen mit einem kleinen Kern (Fig. 10¹, 13 smy³), der sich im ganzen dunkel tingiert und gröbere Chromatinschollen enthält, die nicht selten die Andeutung der „Radstruktur“ zeigen. Eine scharfe Trennung zwischen diesen beiden Kerntypen ist jedoch nicht vorhanden, vielmehr lassen sich alle Übergänge sowohl in bezug auf die Kerngrösse wie in Färbung und Chromatingehalt nachweisen (Fig. 13 smy⁴).

Die gelappten Kerne, von denen wir eine Anzahl in Fig. 12 (sl₁₋₃) wiedergegeben haben, zeigen die charakteristischen Besonderheiten der Kerne der neutrophilen Leukozyten des menschlichen Blutes, d. h. die Kernmasse ist in meist drei ungleichmässig grosse rundliche Stücke segmentiert, die in der Regel wohl stets durch dünne chromatische Fäden miteinander zusammenhängen. Doch finden sich auch deutlich völlig fragmentierte Kerne. Zwischen den Zellen mit gelappten Kernen und denen mit kugeligen trifft man auch hier alle Übergänge, d. h. Zellen, deren Kerne längsoval oder nierenförmig gestaltet oder tief eingebuchtet sind (Fig. 12 sl).

Ebenso wie die eosinophilen Elemente, nur sehr viel häufiger, zeigen auch die neutrophilen Formen innerhalb des Thymusgewebes typische Mitosen. Diese liegen oft vereinzelt mitten unter den Rindenzellen (Fig. 14 m)¹⁾, oft aber auch innerhalb eines Herdes gleichgranulierter Zellen (Fig. 12 m).

Über die Natur dieser granulierten Zellformen kann ein Zweifel nicht bestehen. Grösse, Form sowie der Färbungscharakter der Granula weisen auf die neutrophilen Leukozyten des Blutes und der blutbildenden Organe hin, die, wie Kontrollpräparate der Milz und ein Vergleich mit den entsprechenden Formen innerhalb der Blutgefässe beweisen, in allen Punkten mit ihnen übereinstimmen. Vor allem aber wird diese Identität mit durch die Kernform erwiesen, die speziell in den gelappten Typen — wie schon oben bei der Beschreibung hervorgehoben wurde — durchaus den feingranulierten Leukozyten des Blutes entsprechen. Was die Zellen mit den kompakten kugeligen Kernen angeht, so haben wir es in ihnen mit typischen „mononukleären“ Formen zu tun, wie sie vor allem im Knochenmark und der Milz angetroffen werden, also mit charakteristischen neutrophilen Myelozyten (cf. besonders Fig. 10²⁾), die innerhalb der Thymus selbst auf dem Wege der Kernumformung in die gelapptkernigen Elemente übergehen.

c) Mastzellen.

Eine dritte Art der in der menschlichen Thymus vorkommenden granulierten Elemente stellen die Zellen mit baso-

¹⁾ In der Reproduktion (Taf. XVIII) ist die Granulation zu rot wiedergegeben.

philen Granulationen dar. Diese finden sich im ausgebildeten Zustande vorwiegend in der äusseren Rindenzone und besonders im interlobulären Bindegewebe. Im Gegensatz zu den anderen granulierten Zellen sind sie nie zu Gruppen vereint, sondern kommen immer nur vereinzelt vor, stellen aber einen ziemlich häufigen Befund dar. In voller Ausbildung sind es grosse, langgestreckte Zellen mit wenig seitlichen Fortsätzen. Die Granula dieser Zellen färben sich bei Methylgrün-Pyronin-Färbung leuchtend rot, bei Giemsa-Färbung dunkelblau-violett, sind also ausgesprochen basophil und deutlich metachromatisch. Sie erfüllen dichtgedrängt den ganzen Plasmaleib, so dass der Kern von ihnen oft völlig verdeckt wird. Die Grösse der meist etwas unregelmässig konturierten Granula wechselt; neben ganz feinen trifft man in derselben Zelle auch grosse Körner, die beinahe die Dimensionen der acidophilen Granula erreichen. Manche Zellformen enthalten nur sehr spärlich Granulationen (Fig. 16 mz 1-4). Diese liegen dann meist mehr in der Peripherie des Plasmas in sehr ungleichmässiger Verteilung. Im Gegensatz zu den stark granulierten Zellen finden sich diese Formen meist im Innern des Rindengebietes selbst.

Der Kern der basophil granulierten Zellen färbt sich metachromatisch, d. h. nach Giemsa-Färbung in demselben Farbenton wie die Granula, also dunkelblau-violett und hebt sich dadurch ohne weiteres von den Kernen der umgebenden Rindenzellen ab (Fig. 16 mz). Er liegt zentral und ist stets rundlich oder längsoval, nie gelappt. Auch an ihm sind zwei Typen zu unterscheiden; in einem Falle sind die Kerne gross und langgestreckt und zeigen nur feine Chromatinbröckel, die mehr über den ganzen Kern gleichmässig verteilt sind (Fig. 10⁶, 16 mz 1); im anderen Fall ist der Kern mehr rund und die chromatische Substanz sitzt in Form grober keilförmiger Schollen der Kernmembran an, so dass oft die typische Struktur des „Radkernes“ erscheint (Fig. 16 mz 1-2). Mitosen haben wir niemals in diesen Zellen feststellen können.

Über die Natur dieser Thymuselemente kann gleichfalls kein Zweifel bestehen. Alle ihre charakteristischen Merkmale weisen darauf hin, dass wir es hier mit Mastzellen zu tun haben, wie sie im Bindegewebe des Menschen vorkommen und zwar nicht nur mit fertig ausgebildeten Zellen, sondern auch mit solchen, die erst in der Bildung begriffen sind.

d) Plasmazellen.

Einen weiteren Befund in der Thymusrinde stellen Elemente dar, die durch die besonders starke Basophilie ihres Protoplasmas ausgezeichnet sind. Sie finden sich sehr häufig in der Rinde zerstreut und bilden oft grössere Herde. In ihrer typischen Ausbildung stellen sie ziemlich grosse Zellen dar mit reichlichem Protoplasma, das sich nach Pappenheimscher Methylgrün-Pyronin-Färbung intensiv färbt und verschwommen granuliert erscheint. Neben dem Kern ist sehr oft noch ein heller Fleck, eine „Vakuole“, vorhanden. Die Kerne dieser Elemente zeigen fast durchgehend die „Radkernstruktur“ mit oft kleineren, oft grösseren Abweichungen.

Es ist wohl nicht zweifelhaft, dass diese Zellformen in ihrer typischen Ausbildung mit ihrem stark basophilen Plasma, dem Radkern und der „Vakuole“ neben dem Kern nichts anderes als Plasmazellen sind, deren Vorkommen in der Thymus schon von Schaffer (08), Barbano u. a. beschrieben ist.

Dass zwischen den Plasmazellen und Mastzellen engere Beziehungen bestehen, ist schon länger behauptet, besonders aber von Downey erwiesen worden. Auch in der menschlichen Thymus finden sich unzweideutige Belege hierfür. Man findet nämlich nicht selten mitten in den Rindenzellen plasmareiche Formen (Fig. 15a), die ein stark basophiles Plasma besitzen, in dem auch die sog. „Vakuole“ nicht fehlt, die aber in ihrem Zelleib mehr oder weniger zahlreich deutliche basophile Granula enthalten, also als „Plasmamastzellen“ zu bezeichnen sind.

e) Rindenzellen.

Die eigentlichen „Rindenzellen“ der Thymus sind kleine runde Elemente mit einem sehr grossen Kern und einem nur schmalen Plasmasaum. In den Fig. 9, 11—16 sind sie überall mit zur Darstellung gebracht.

Der Kern ist zentral gelegen, entweder rund oder mehr oval und färbt sich in der Regel mit Kernfarbstoffen im ganzen ziemlich dunkel; das Chromatin bildet grobe Schollen, die eine ausgesprochene Neigung haben, sich an der Kernmembran festzusetzen, so dass oft deutliche „Radkernstrukturen“ entstehen (cf. Fig. 9 rz, 16 rz).

Im Gegensatz dazu stehen die grösseren Rindenzellen, die an Zahl den kleineren nachstehen, aber in allen Fällen unter diesen zerstreut angetroffen werden; sie sind besonders in den Fig. 12, 13 und 16 wiedergegeben. Ihr Kern ist gross, meist von kugelförmiger Form und erscheint infolge seines verhältnismässig geringen Gehaltes an chromatischer Substanz ziemlich hell gefärbt; das Chromatin ist in feiner Form über den ganzen Kern verteilt (cf. Fig. 13 rzg, 16 rzg). Zwischen den gross- und kleinkernigen Formen finden sich alle Übergänge und zwar sowohl in bezug auf die Grösse des Kernes wie auch auf das Verhalten des Chromatins.

Ausser diesen Thymusrindenzellen mit ruhenden Kernen trifft man noch sehr häufig in allen untersuchten Thymen Zellen, die sich in Mitose befinden. Die Teilungsfiguren liegen vereinzelt innerhalb der Rinde und sind in dieser ziemlich regelmässig verteilt, alle Stadien der Karyokinese sind nachweisbar. Nach der jeweiligen Menge des Protoplasmas und der Grösse desselben im ganzen gehören sie sowohl den kleinen wie den grossen Formen der Rindenzellen an.

Was nun die Natur der Thymusrindenzellen angeht, so stimmen sie in allen ihren morphologischen Merkmalen auch beim Menschen vollständig mit den lymphoiden Elementen des lymphozytären Gewebes überein, so dass wir, ebenso wie wir oben schon für die Ratte hervorgehoben haben, auch in den Rindenzellen des Menschen typische Lymphozyten sehen müssen. Wir werden auf diese Frage noch eingehender zurückkommen.

Kritische Erörterung unserer Befunde.

Die hier mitgeteilten Resultate unserer Untersuchungen an menschlichem Material stützen und ergänzen die Ergebnisse, zu denen wir bei der Untersuchung der Rattenthymus gekommen sind, in allen Punkten; sowohl bei der Ratte wie beim Menschen finden sich in der Thymus granulirte Leukozyten bzw. die ihnen entsprechenden Blutelemente, sowie lymphozytäre und deren Umbildungsformen.

Was nun zunächst die eosinophilen Zellen angeht, die von vielen Autoren für besondere granulirte Thymuszellen gehalten oder ihrer Natur nach wenigstens von manchen für zweifel-

haft erklärt wurden, so konnten wir nachweisen, dass es sich hierbei um typische eosinophile Leukozyten handelt, als die sie auch Schridde (11a, b) ohne Bedenken gedeutet hat. Hierfür sprechen abgesehen von dem völlig übereinstimmenden Habitus der Granula und ihrem Färbungscharakter vor allem die Kernformen: bei der Ratte der für die eosinophilen Leukozyten charakteristische unsegmentierte Ringkern, beim Menschen die Zwerchsackform. Ausser der sicheren Konstatierung dieser Identität konnten wir aber auch zeigen, dass die eosinophilen Leukozyten in der Thymus selbst gebildet werden. Auf diese Tatsache haben schon frühere Autoren, besonders Schaffer (91, 93), dann auch Mietens (08, 10) und Marcus (07, 08) aufmerksam gemacht; nur hielten sie die eosinophil granulierten Elemente für besondere Thymuszellen.

Zugunsten eines autochthonen Entstehens innerhalb des Thymusgewebes sprechen zwei Tatsachen, nämlich einmal das Vorkommen typischer „mononukleärer“ Formen, der sog. Myelozyten, und zweitens der Nachweis mitotischer Teilungsfiguren in den eosinophil granulierten Elementen. Stellt man sich auf den Standpunkt Ehrlichs und seiner Anhänger, dass nur das Knochenmark die Bildungsstätte der eosinophilen Leukozyten sei, wo sie durch Kernumformung aus den ausschliesslich auf das Mark beschränkten eosinophilen Myelozyten hervorgingen und zu den gelapptkernigen Formen des strömenden Blutes würden, so genügt schon der Nachweis, dass mononukleäre Formen in der Thymus vorkommen, um die Unmöglichkeit der Einwanderung aus dem Knochenmark darzutun. Schridde (11a) leugnet demgemäss auch, dass im ausserembryonalen Leben solche Elemente in der Thymus sich fänden; die eosinophilen Leukozyten beständen hier „durchweg“ aus gelapptkernigen Formen. Demgegenüber hat schon Barbano, der allerdings in der Deutung der Natur der granulierten Zellen nicht ganz frei von Widersprüchen ist, indem er sie bald für Leukozyten, bald für besondere Thymuselemente erklärt, darauf aufmerksam gemacht, dass die einkernigen Formen weitaus überwiegen. Auch Hart, der sich in neuerer Zeit eingehender mit dieser Frage beschäftigte, betont, „dass die an Myelozyten erinnernden einkernigen Elemente doch etwas häufiger vorzukommen scheinen, als Schridde annimmt“. Demgegenüber ist es belanglos, dass dieser Autor ihre

Anwesenheit in der Thymus dadurch zu deuten sucht, dass er — allerdings ohne irgend einen Beweis hierfür zu erbringen — an eine „Ausschwemmung der ein- und rundkernigen Eosinophilen aus dem Knochenmark“ glaubt und dabei offenbar übersieht, dass doch nach der Ehrlich'schen Lehre das Vorkommen ein- oder rundkerniger Eosinophiler in der Zirkulation unter normalen Umständen und im extraembryonalen Leben strikte geleugnet wird.

Nach unseren Untersuchungen unterliegt es keinem Zweifel, und die hier wiedergegebenen Abbildungen bilden einen einwandfreien Beleg hierfür, dass die „mononukleären“ eosinophilen Leukozyten sowohl in der Thymus der Ratte, als auch in der des normalen erwachsenen Menschen (cf. Fig. 1, 2, 3, 9, 10^s) ein ausserordentlich häufiger Befund sind; in jedem Herd werden sie in Menge angetroffen und an manchen Stellen überwiegen sie an Zahl beträchtlich über die gelapptkernigen Formen. Wir haben an einer Reihe von Schnitten durch die Thymus verschiedener Individuen Zählungen vorgenommen, die ergeben haben, dass die typischen mononukleären Elemente oft weit mehr als die Hälfte sämtlicher eosinophiler Leukozyten ausmachen (Fig. 9), wenn auch an anderen Stellen ihr Prozentsatz wieder geringer sein kann; jedoch müssen wir betonen, dass wir sie niemals vollständig vermissten und dass auch noch beim 37 jährigen Menschen ihre Zahl im Durchschnitte mindestens 35% betrug. Dass die Ein- bzw. Rundkernigkeit dieser Elemente nur vorgetäuscht sein könnte und dass es sich dabei vielmehr um angeschnittene Zellen oder degenerierende und zusammengefloßene Kerne handle, Einwände, wie sie gelegentlich vorgebracht werden, bedarf nach den wiedergegebenen Abbildungen wohl keiner besonderen Widerlegung.

Aber abgesehen hiervon wird die autochthone Entstehung der eosinophilen Leukozyten in der Thymus mit absoluter Bestimmtheit durch den Nachweis ihrer mitotischen Teilung erbracht. Bei der Ratte sind die Mitosen ein verhältnismässig häufiger Befund (cf. Fig. 1, 2, 4 m) und finden sich ebensowohl bei jüngeren wie bei älteren ausgewachsenen Tieren; beim Menschen werden die Kernteilungsfiguren seltener angetroffen, kommen aber noch beim 37 jährigen Individuum (Fig. 11) vor — ältere Thymen standen uns bis jetzt in geeignetem Fixationszustande leider nicht zur Verfügung. Wir

sind also zu dem Schlusse berechtigt, dass die eosinophilen Leukozyten jedenfalls auf dem Wege mitotischer Teilung aus den in der Thymus vorhandenen mononukleären Elementen hervorgehen. Woher diese letzteren wieder ihren Ursprung nehmen, ist eine Frage, die weiter unten im Zusammenhang erörtert werden soll.

War, wie aus der Literaturübersicht hervorgeht, das Auftreten eosinophil granulierter Elemente in der normalen Thymus schon lange bekannt, so muss es um so mehr verwundern, dass das Vorkommen neutrophil granulierter Leukozyten, bzw. der sogenannten Spezialleukozyten, fast so gut wie ganz — nur Ghika erwähnt sie als pathologische Erscheinung beim Menschen und Maximow (09) bei Rattenembryonen — unbekannt geblieben ist. Und doch stellen sie, speziell beim erwachsenen Menschen (von 15—37-jährigen von uns konstatiert) einen regelmässigen und unter Umständen sehr häufigen Befund dar. Dass es sich bei diesen Formen wirklich auch um jene Blutelemente handelt, folgt aus dem morphologischen Verhalten der Granula und ihrer Farbenaffinität, bzw. aus ihren charakteristischen Kernformen ohne weiteres (Fig. 6, 12). Was aber diesen Befunden ihre besondere Bedeutung verleiht, ist die Tatsache, dass ebenso wie bei den eosinophilgranulierten Elementen die typischen ein- oder rundkernigen, „mononukleären“ Formen, die sogenannten Myelozyten, einen ausserordentlich hohen Prozentsatz darstellen, ja in manchen Herden findet man überhaupt keine oder nur sehr vereinzelt gelapptkernige Formen (Fig. 13). Dass es sich auch hier nicht etwa um angeschnittene oder degenerierende Elemente handelt, lehrt ein Blick auf unsere Abbildungen (Fig. 10 1, 2; 12; 13) so deutlich, dass wir uns eine besondere Beweisführung ersparen können. Damit wird aber auch für diese Zellen der unumstössliche Beweis erbracht, dass sie nicht aus den Blutgefässen in die Thymus eingewandert sein können — denn nach der Ehrlichschen Lehre kommen unter normalen Verhältnissen im extrauterinen Leben im strömenden Blut ausschliesslich gelapptkernige, „polymorphkernige“ Leukozyten dieser Art vor —, sondern in der Thymus selbst entstanden sein müssen. Diese Annahme wird dadurch zur Gewissheit, dass auch in diesen Elementen Mitosen ohne Rücksicht auf das Alter der Individuen angetroffen werden und zwar sehr viel häufiger als bei den eosinophilen Leukozyten

(Fig. 12 m; 14); freilich liess sich, wie schon oben bei der Befundbeschreibung hervorgehoben wurde, der sichere Nachweis der Kernteilungsfiguren in diesem Falle nur für den Menschen erbringen; denn bei der Ratte entbehren die Spezialleukozyten der Granula — wenigstens bei den von uns angewandten Fixations- und Färbungsmethoden —, so dass die Identifizierung der sich teilenden Zellen hier auf Schwierigkeiten stösst. Wir dürfen also jedenfalls soviel sagen, dass beim Menschen die neutrophilen Leukozyten in der Thymus selbst aus den vorhandenen „mononukleären“ Elementen auf dem Wege der mitotischen Teilung hervorgehen. Auch hier wird noch später zu untersuchen sein, woher wieder diese Ausgangsformen ihren Ursprung nehmen.

Die Mastzellen stellen nach unseren Befunden gleichfalls bei Ratte und Mensch einen konstanten Zellbestandteil der Thymus dar. Bei der Ratte gelang es uns allerdings nicht, sie trotz des Reichtums an diesen Elementen im Thymusgewebe selbst nachzuweisen; sie scheinen sich vielmehr bei diesem Tier ausschliesslich in ihrem Vorkommen auf das interlobuläre Bindegewebe zu beschränken. Dagegen findet man sie beim Menschen im Rindengebiet mitten unter den Thymuszellen (Fig. 15, 16). Da die eigentlichen Mastzellen im strömenden Blute fehlen und die Formen des Bindegewebes durchweg ungelappte Kerne besitzen, so versagt hier das für den Nachweis ihrer Entstehung bei den anderen granulierten Elementen angewandte Kriterium der Kernform. Trotzdem lässt sich auch für diese basophil gekörnten Zellen zeigen, dass sie an Ort und Stelle gebildet werden. Dafür spricht einmal, dass die mit Granula vollgepfropften Formen im Bindegewebe angetroffen werden, während die mit spärlichen Körnern, also die eben in der Ausarbeitung ihrer charakteristischen Plasmabestandteile befindlichen Zellen (Fig. 16), in der Rinde selbst liegen; dafür spricht ferner der Umstand, dass man nicht selten solche Elemente findet (Fig. 15), die nur zum Theil Granula enthalten, während der Rest ihres Plasmaleibes und auch ihr Kern den Charakter typischer Plasmazellen aufweist. Da Mitosen niemals angetroffen wurden, so müssen die Mastzellen im vorliegenden Falle direkt aus ungranulierten Formen hervorgehen; die Natur dieser Ursprungselemente soll später ihre Erörterung finden. Hier sei vorerst nur noch soviel

hervorgehoben, dass wir Downeys Befund über die Entstehung der Mastzellen aus Plasmazellen in Katzen-Lymphdrüsen für die menschliche Thymus durchaus bestätigen können.

Für die Annahme Barbanos, dass die Zellen mit basophilen Granula aus umgewandelten Eosinophilen durch Änderung des Färbungscharakters der Granula hervorgehen, fanden wir keinerlei Anhaltspunkt; auch konnten wir aus der Beschreibung dieses Autors nicht bestimmt entnehmen, ob er mit den von ihm geschilderten basophil granulierten Elementen die in der Thymus stets vorkommenden Mastzellen meint, wofür seine Abbildungen zu sprechen scheinen, oder nicht.

Die Anwesenheit von Plasmazellen in der Thymus konnten wir gleichfalls bestätigen und zwar sowohl für die Thymus der Ratte wie für die des Menschen. Es handelt sich hierbei nicht nur um die bekannten Formen des Marschalkoschen Typus, sondern auch um solche Elemente, die in ihrem Kerncharakter sich den verschiedenen Formen der Lymphozyten des lymphoiden Gewebes nähern und die nach Weidenreich (09) wegen ihrer Plasmabeschaffenheit alle den Plasmazellen zuzurechnen sind (Fig. 8). Dass es sich hierbei wirklich um echte Plasmazellen handelt, ist nach der oben gegebenen ausführlichen Beschreibung nicht im geringsten zweifelhaft: es erscheint uns darum völlig unverständlich, wie Hart die „angeblich“ beschriebenen Plasmazellen der Thymus für „epitheliale Retikulumzellen“ erklären kann. Dass die Plasmazellen in der Thymus selbst entstehen, geht daraus hervor, dass man alle nur möglichen Übergänge zwischen ihnen und solchen Zellen findet, die ihren sonstigen morphologischen Charakteren nach als gewöhnliche Lymphozyten aufgefasst werden müssen (cf. Fig. 5 und 8), eine Tatsache, die auch schon von Schaffer (08) festgestellt und in gleichem Sinne gedeutet wurde. Mitotische Teilungen der Plasmazellen konnten wir hier dagegen niemals nachweisen.

Bevor wir nun die Beziehungen der granulierten Thymuselemente und der Plasmazellen zu den eigentlichen Zellformen der Rinde erörtern, müssen wir auf die Frage nach der Natur der Rindenzellen näher eingehen. Dabei kann die rein genetische Frage nach ihrer Herkunft und ihrem ersten Auftreten in der Thymus ausser Betracht bleiben. Da wir uns im wesentlichen wenigstens nur auf das Studium der Verhält-

nisse des erwachsenen Organismus beschränkten, vermögen wir zu diesem Problem auf Grund eigener Beobachtungen keine Stellung zu nehmen. Wir haben bereits oben bei der Befundbeschreibung eine eingehende Schilderung des morphologischen Charakters der Rindenzellen gegeben und dabei die Aufmerksamkeit auf die bisher nur wenig beachtete Tatsache gelenkt, dass man in Wirklichkeit zwei Typen unterscheiden könne, eine kleinere und eine grössere Zellform, die sich im Volumen und der Struktur des Kernes voneinander — wenigstens in ihrer typischen Ausbildung — unterscheiden, aber gleichwohl durch kontinuierliche Übergänge verbunden sind. Beide Typen stimmen in allen ihren Merkmalen vollständig mit den gewöhnlichen Lymphozytenformen des lymphoiden Gewebes überein, so dass wir unbedingt auf die Seite der Autoren treten, die in diesen Rindenzellen nichts anderes als echte Lymphozyten sehen, mit denen sie nach den Untersuchungen Hammars und seiner Schüler auch in ihrem biologischen Verhalten durchaus übereinstimmen. Besonders möchten wir auf Grund unserer Untersuchungen zugunsten einer derartigen Identifizierung noch anführen, dass die gleiche Formenreihe, wie sie sich in Gestalt der kleineren, mittleren und grossen Lymphozyten im lymphoiden Gewebe findet, auch in der Thymusrinde angetroffen wird und dass ebenso wie bei jenen eine Abschnürung kleinster peripherer basophiler Protoplasmateile zu konstatieren ist (Fig. 5). Irgendwelche morphologischen Merkmale, die gegen eine derartige Identität sprechen, konnten von uns nicht gesehen werden und sind auch in neuerer Zeit nicht bekannt geworden. Der einzige angebliche Unterschied, der von Schridde (11b) hervorgehoben wird und in dem Fehlen der Altmann-Schriddeschen Granula in den Rindenzellen im Gegensatz zu ihrer Anwesenheit in den Lymphozyten bestehen soll, ist schon durch den inzwischen von den verschiedensten Seiten geführten einwandfreien Nachweis hinfällig geworden, dass diese Granulationen den Charakter von Mitochondrien haben und, wie schon Schaffer (10) und Hammar (07) betonten, eine Bedeutung im Sinne einer Artdiagnostik überhaupt nicht beanspruchen können; mit dem neuerdings durch Pappenheimer geführten Nachweis, dass die Körnelung entgegen Schriddes Angaben auch in den kleinen Thymuszellen vorkommt, ist jener Einwand vollends hinfällig geworden.

Von den Autoren, die den lymphoiden Charakter der Thymusrindenzellen in Abrede stellen, wird meistens auch darauf hingewiesen, dass die Thymusrinde nicht nach Art eines lymphoiden Gewebes gebaut sei, dass ihr Keimzentren und vor allem auch Lymphgefässe fehlten, Einwände, die besonders Schridde (11b) hervorhebt. Was zunächst die Keimzentren angeht, so ist richtig, dass die Rinde niemals derartige Bildungen zeigt, allein sie entbehrt darum, wie in der Befundbeschreibung eingehend erörtert wurde, keineswegs der teilungsreifen grösseren Formen (cf. Fig. 3, 5, 6, 13 rzg) und Mitosen sind in allen Fällen ein recht häufiger Befund. Wie schon Weidenreich (09) ausführte, sind aber die Keimzentren durchaus keine charakteristische Besonderheit des lymphoiden Gewebes, wo sie nur bei sehr lebhafter Zellproliferation und an bestimmten Örtlichkeiten vorkommen, aber ebenso häufig vermisst werden; speziell in den normalen lymphoiden Infiltrationen des Bindegewebes, wie z. B. im Netz, werden sie kaum angetroffen. Die Keimzentren sind also Differenzierungen einer bestimmten Gewebsformation, sagen aber über den Zellcharakter selbst nichts aus. Ihr Fehlen beweist höchstens, dass die Thymus nicht nach dem Typus der Lymphdrüsen gebaut ist, was durchaus nicht bestritten wird.

Die Frage nach den Lymphgefässen der Thymus ist schon oft Gegenstand der Erörterung gewesen; wenn in der Tat in der Thymus lymphozytäre Elemente produziert werden, so müsste bei der Grösse des Organs namentlich im Zustande voller Aktivität eine starke Ausfuhr dieser Zellen erwartet werden, die auf dem Wege der wegführenden Lymphbahnen die Thymus verlassen. Nun bestreitet Schridde (11b), dass die Thymus überhaupt derartige Lymphgefässe besitze. Dem stehen zunächst die Angaben Hammars, Maximows (09) und Schaffers (Schaffer und Rabl) entgegen, die bei Säugern an Schnittpräparaten die Existenz von Lymphgefässen nachweisen konnten; auch Stöhr (06) beschreibt solche Bahnen in der Amphibienthymus. Beim Menschen haben Matsunaga und Severeanu mit Hilfe des Injektionsverfahrens das Vorkommen von Lymphgefässen sichergestellt; allein die von dem ersteren Autor beschriebenen Lymphwege des eigentlichen Thymusparenchyms sind nach seinen eigenen Angaben so enge Spalten, dass er sie nicht als Abfuhrwege für Lymphzellen anzusprechen wagt, und Severeanu

hat eine genauere mikroskopische Untersuchung nicht vorgenommen. Wir haben nun, um diese Frage zu klären, eine grosse Anzahl von Serienschnitten der menschlichen Thymus durchmustert und konnten zunächst feststellen, dass weitere und engere Lymphgefässe im interlobulären Bindegewebe der Thymus neben den Blutgefässen verlaufen und meist strotzend mit typischen Lymphozyten angefüllt sind. Wir geben in Fig. 17 ein derartiges Bild wieder; zwischen zwei Läppchen, deren äusserste Rindenzone (rz) dargestellt ist, findet sich ein breiter Zug interlobulären Bindegewebes, in dem eine weite Vene (v) verläuft, die einzelne rote Blutkörperchen und geronnenes Plasma enthält; in ihrer unmittelbaren Nachbarschaft ist im Schrägschnitt ein gleichfalls ziemlich weites Gefäss (lg) mit einfacher endothelialer Auskleidung getroffen, das mit Lymphozyten voll gefüllt ist; über seine Lymphgefässnatur kann ein Zweifel nicht bestehen. Wie die Verfolgung durch die Schnittserie zeigte, enthält es nirgends rote Blutkörperchen, nur ab und zu finden sich vereinzelte eosinophile Leukozyten mit Zwerchsack-Kernen. Damit ist erwiesen, dass die menschliche Thymus Lymphgefässe besitzt, die Lymphzellen enthalten. Nicht ganz so einfach ist die Frage, in welcher Beziehung diese Lymphgefässe zum Rindengebiet der Thymus stehen; an uninjizierten Präparaten — leider standen uns bisher nur solche zur Verfügung — lassen sich die immer enger werdenden und sich verteilenden Lymphbahnen bis unmittelbar an die Oberfläche der Rinde verfolgen; aber ein direktes Eintreten in das Gewebe haben wir nicht mit Sicherheit beobachten können. Trotzdem halten wir für gewiss, dass diese Lymphgefässe als Abfuhrwege der Rindenelemente funktionieren. Ihr Inhalt stimmt nämlich so vollständig mit den Rindenzellen überein (cf. Fig. 17), dass man sehr oft im Zweifel ist, ob man nun wirklich ein Gefäss oder einen Tangentialschnitt durch die Rindenzone eines angrenzenden Läppchens vor sich hat, ein Zweifel, der bei Verfolgung der Schnittserie natürlich sofort behoben wird. Ausserdem ist zu beachten, dass das interlobuläre Gewebe, in dem jene Bahnen verlaufen, stellenweise so von kleinen Zellen infiltriert ist, dass eine Abgrenzung nach der Rindenzone zur Unmöglichkeit wird. Noch auf einen Punkt sei die Aufmerksamkeit gelenkt! Wir wissen, dass es lymphoid funktionierende Organe gibt, die der

abführenden Lymphgefäße entbehren; so ist es bei der menschlichen Milz, bei der die Vene die in ihr produzierten Leukozyten der allgemeinen Blutzirkulation zuführt. Es scheint nun manches dafür zu sprechen, dass auch in der Thymus die Venen eine ähnliche Funktion besitzen und dass die Thymusrindenzellen, d. h. die Lymphozyten, in die Blutkapillaren einwandern und von da durch die Venen weiter befördert werden. Da wir keine Injektionspräparate hatten, konnten wir hierüber zu einer sicheren Entscheidung nicht gelangen, halten aber den geschilderten Modus für sehr wahrscheinlich.

Alle die bisher entwickelten Gründe veranlassen uns, die Rindenzellen für echte Lymphozyten zu halten.

Dazu kommen aber noch weitere wesentliche Momente. Schon Schaffer (08) hat darauf hingewiesen, dass das Vorkommen von typischen Plasmazellen in der Thymus und der Nachweis ihrer Entstehung an Ort und Stelle aus gewöhnlichen Rindenelementen ihn veranlassen, in diesen Zellen ohne Rücksicht auf ihre allenfallsige Genese echte Lymphozyten zu sehen. Wir haben schon oben hervorgehoben, dass wir Schaffers Befunde vollständig zu bestätigen in der Lage sind: es lässt sich in der Tat unschwer zeigen, dass zwischen den Plasmazellen und den Rindenzellen sowohl in bezug auf das Plasma wie auf Kernform und Kernstruktur alle Übergänge existieren (cf. Fig. 8); speziell die Radkernstruktur ist eine Eigentümlichkeit, die bei den Rindenzellen weit verbreitet ist (cf. Befundbeschreibung).

Aber diese Möglichkeit der Weiterdifferenzierung der Rindenzellen ist nicht nur in der Richtung der Plasmazellen gegeben, sondern erstreckt sich auch, wie wir zeigen werden, auf alle oben beschriebenen granulierten Zellformen, die in der Thymus vorkommen. Wir haben schon auf die nahen Beziehungen der Plasmazellen zu den Mastzellen hingewiesen und gezeigt, dass in Elementen vom Plasmazellentypus basophile Granula auftreten. Solche Formen liegen stets ganz vereinzelt mitten in der Thymusrinde von gewöhnlichen Rindenzellen allseitig umgeben (Fig. 15 a, b); man sieht dabei, wie einzelne Rindenzellen (Fig. 15b rechte Hälfte) bei Beibehaltung ihrer Kernform und Kernstruktur ihren Plasmasaum vergrössern, wie die Basophilie Hand in Hand damit zunimmt und schliesslich Granula auftreten; der Kern kann dabei (Fig. 15) seine Struktur

so vollständig erhalten, dass er sich in nichts von dem der Nachbarzellen unterscheidet. Auch bei der direkten Mastzellenbildung ist das Verhalten der Kerne besonders bemerkenswert (Fig. 16 mz), abgesehen von dem metachromatischen Charakter, der mit der Ausarbeitung der Granula auftritt, zeigt er in Grösse, Form und Chromatinstruktur eine so auffallende Übereinstimmung mit den Kernen der Nachbarzellen (cf. Fig. 16 mz mit den übrigen wiedergegebenen Kernen), dass ein Zweifel über die Artgleichheit und die Genese nicht bestehen kann. Dabei ist bemerkenswert, dass auch die grösseren Kernformen der Thymusrindenzellen ihr Analogon in den Mastzellenkernen finden (Fig. 10^a).

Doch auch für die eosinophilen und neutrophilen Leukozyten bzw. Spezialleukozyten lässt sich der Nachweis erbringen, dass sie in der Thymusrinde aus ungranulierten Elementen hervorgehen und dass ihre Mutterformen die Rindenzellen selbst sind. Es wurde wiederholt bei der Befundbeschreibung hervorgehoben, dass überall mononukleäre Formen, also „Myelozyten“, angetroffen werden und dass man den Kernen nach zwei Typen von solchen unterscheiden könne, nämlich grosskernige und kleinkernige. Er lässt sich nun zeigen, dass diese beiden Typen durchaus den geschilderten extremen Typen der Rindenzellen entsprechen. In Fig. 3 sind zwei eosinophile Myelozyten (emy) wiedergegeben, die dem grosskernigen Typus angehören und von kleinen Rindenzellen umgeben sind. Daneben aber finden sich grosse Elemente (rzg), die in ihrem ganzen Habitus, speziell in dem des Kernes, sich in nichts von jenen Myelozyten unterscheiden, nur dass sie eben der Granula entbehren. In Fig. 1 (Ratte) sind eine ganze Anzahl der grösseren Rindenzellen mitgezeichnet (rzg), die sich von den dunkleren kleineren (rz) sehr deutlich abheben und im Aussehen ihres Kernes mit dem der Myelozyten (emy) vollständig übereinstimmen. Fig. 9 stellt die gleichen Verhältnisse aus der menschlichen Thymus dar; im Gebiet der wiedergegebenen Stelle ist besonders charakteristisch die vollkommene Identität zwischen den kleinen Rindenzellen, d. h. ihrem Kernhabitus (rz) und den Kernen der eosinophilen Myelozyten (emy), die hier den kleinen dunklen Typus zeigen. Wir glauben, dass die hier reproduzierten Abbildungen, die sich leicht hätten vermehren lassen, genügen, um diesen Übergang zwischen den Thymusrindenzellen und den

eosinophilen Myelozyten zu demonstrieren. Es wurde schon oben hervorgehoben, dass auch andere Autoren, so besonders Marcus, Schaffer und Mietens, die eosinophilen Elemente wie die Plasmazellen direkt von den Thymuszellen ableiten; wir befinden uns also hierbei in völliger Übereinstimmung mit diesen Autoren. Mietens und Schaffer geben auch an, dass die eosinophilen Granula auf dem Wege der Phagozytose von den Rindenzellen aufgenommen werden; wir wollen hier auf diese Frage nicht näher eingehen, weil sie ausserhalb des Rahmens unserer Erörterung liegt. Jedenfalls sprechen jene Angaben völlig zugunsten der von uns vertretenen Auffassung.

Was für die eosinophilen Elemente gilt, gilt aber auch in dem gleichen Umfang für die neutrophilen. Auch hier lassen sich beim Menschen alle Übergänge zwischen den Myelozytenformen und den Rindenzellen unschwer nachweisen. In der von uns wiedergegebenen Fig. 13 sind einige dieser letzteren zur Darstellung gebracht; die Rindenzelle rzg_1 hat durchaus denselben Kerncharakter wie der Myelozyt smy_5 und die Rindenzelle rz wie die Myelozyten smy_3 und smy_4 . Vielleicht noch deutlicher und überzeugender sind die Verhältnisse bei der Ratte; in Fig. 7 ist eine Gruppe von Myelozyten der Spezialleukozyten smy_1 (siehe oben Befundbeschreibung) wiedergegeben, die einerseits Übergänge zu den Formen (smy_{2-4}) mit ausgesprochenen Lochkernen zeigen, andererseits zu den grösseren Rindenzellen (rzg); die letztere weist genau denselben Kernhabitus auf wie die Zelle smy_1 , bei der eben die charakteristische Lochkernbildung einsetzt, die zu den Formen smy_2 überleitet. Auch in der Fig. 6 springt die grosse Übereinstimmung zwischen den Kernen der Myelozytentypen smy_{1-2} und der der grossen Rindenzellen rzg in die Augen.

Auf Grund all dieser Befunde kommen wir demnach zu dem Resultat, dass nicht nur die Plasmazellen aus den Thymusrindenzellen hervorgehen, sondern auch die granulierten Leukozytenformen: die eosinophilen, neutrophilen bzw. Spezial-Leukozyten und die Mastzellen, von denen die beiden ersteren nach ihrer granulären Differenzierung sich durch mitotische Teilung innerhalb der Thymus weiter vermehren. Diese Tatsachen gewähren nun aber wesentliche Anhaltspunkte für die Beurteilung sowohl des Leukozyten- wie auch des Thymusproblems, zwei Fragen, auf die wir noch näher einzugehen haben.

Die lokale Entstehung der granulierten Leukozyten.

Nach der von Ehrlich und seinen Anhängern vertretenen Auffassung, die unter den neueren Autoren namentlich in Naegeli und Schridde ihre Verteidiger findet, entstehen die granulierten Leukozyten — beim Menschen also besonders die eosinophilen und neutrophilen — unter normalen Verhältnissen und im post-fetalen Leben, ausschliesslich im Knochenmark, wo sie einerseits durch mitotische Teilung aus den dort stets vorhandenen sogenannten mononukleären Formen, den Myelozyten, hervorgingen, andererseits aus besonderen ungranulierten Knochenmarkselementen, den sogenannten Myeloblasten auf dem Wege einer granulären Differenzierung entstünden. In das zirkulierende Blut sollen nach dieser Annahme nur die gelapptkernigen („polymorphkernigen“) teilungsunfähigen Leukozyten gelangen, die sich noch innerhalb des Knochenmarks aus den Myelozyten durch Kernumformung bilden würden. Eine sogenannte lokale Entstehung der granulierten Blutelemente innerhalb eines anderen Organs wäre danach unmöglich; wo sich diese Formen ausserhalb der Zirkulation im Gewebe fänden, könnten sie nur durch Auswanderung aus den Blutgefässen dahin gelangt sein, ohne aber die Möglichkeit zur Produktion neuer Elemente zu besitzen. Dementsprechend leugnen die Anhänger dieser Theorie stets das normale Vorkommen mononukleärer, d. h. teilungsfähiger Elemente sowohl in der Zirkulation wie im Gewebe und bemühen sich, wenn solche dort beschrieben werden, sie als Degenerationsformen gelapptkerniger Zellen hinzustellen oder als Zellstücke, bei denen die übrigen Teile mit den anderen Kernfragmenten durch das Mikrotommesser bis auf eines weggeschnitten worden seien, wodurch eine „mononukleäre“ Zelle vorgetäuscht würde.

Vollständig in diesem Sinne deutet denn auch Schridde (11a) die eosinophilen Leukozyten der Thymus; nur im fetalen Leben sollen sich hier wie auch sonst Myelozyten finden, im erwachsenen Organismus dagegen „durchweg“ gelapptkernige Formen; da zudem eosinophile Elemente in den Blutgefässen und in der Gefässwand selbst nachweisbar seien, wären sie sicher von da in das Thymusgewebe eingewandert und also ursprünglich im Knochenmark gebildet. Dass Hart, wenn er auch Schridde gegenüber das Vorkommen mononukleärer Formen behauptet, sich doch in denselben Gedankengängen bewegt, wurde schon

oben hervorgehoben. Demgegenüber verweisen wir auf unsere eingehend geschilderten Befunde, die zeigen, dass im völlig ausgewachsenen Organismus sowohl beim Tier (Ratte) wie beim Menschen in der Thymus mononukleäre, d. h. teilungsfähige Leukozyten und zwar nicht nur eosinophile, sondern auch neutrophile (bezw. Spezialleukozyten) ein normales Vorkommen sind und dass sie nicht nur vereinzelt angetroffen werden, sondern in verhältnismässig grossen Herden auftreten (Fig. 1, 9, 13), so dass in einzelnen Schnitten weit über die Hälfte aller granulierten Leukozyten ihren Typus zeigen können. Dass es sich aber hierbei wirklich um teilungsfähige Formen handelt, die nicht nur morphologisch, sondern eben auch funktionell den entsprechenden Knochenmarkselementen gleichwertig sind, geht aus dem Befund typischer Mitosen in beiden Leukozytenarten (Fig. 1, 2, 11, 12, 14 m) in der einwandfreiesten Weise hervor. Diesen Tatsachen gegenüber versagen alle oben skizzierten Einwände; es stimmt eben nicht, wenn Schridde behauptet, dass nur gelapptkernige Formen in der Thymus angetroffen würden; und dass hier nicht von Degenerationsformen oder angeschnittenen Zellen gesprochen werden kann, bedarf keiner besonderen Hervorhebung (cf. die typischen Myelozyten der Fig. 3, 10 und 13). Der Nachweis der mitotischen Teilung sichert den Beweis, dass diese granulierten Zellformen in der Thymus selbst entstehen, also autochthone Bildungen sind, und damit die Erkenntnis, dass diese Elemente auch ausserhalb des Knochenmarks gebildet werden können, also nicht durch die Blutgefässe von dort aus eingeschwemmt sein müssen. Wenn Schridde in der Thymus am fixierten Präparat eosinophile Leukozyten in der Gefässwand sah, so folgt daraus natürlich keineswegs, dass es sich um eine Auswanderung in das umliegende Gewebe handeln muss, da ja die Migration ebensogut in das Gefäss hinein gerichtet sein konnte.

Nun ist ja bekannt und wird auch speziell von Schridde hervorgehoben, dass im fetalen Leben fast überall im Gewebe, also ausserhalb des Knochenmarks, Blutbildungszellen, d. h. auch Myelozyten, vorkommen, und man könnte versucht sein, unsere Befunde so zu deuten, dass es sich hier um jugendliche Individuen handelt, in denen sich dieses Bildungsgewebe erhalten hat. Für die Ratten sind wir nicht in der Lage, ein bestimmtes Alter zu

nennen, aber wir nahmen zu unseren Untersuchungen absichtlich völlig ausgewachsene Tiere, darunter auch solche, die trächtig waren. Das menschliche Material stammt, wie angegeben, von 15-, 17-, 19- und 37 jährigen Individuen, es liess sich aber keineswegs konstatieren, dass das Auftreten der Myelozytenherde oder der Mitosen dem Alter entsprechend abnimmt — die Mitosen in Fig. 11 und 14 sind der Thymus des 37 jährigen entnommen — aber selbst wenn dem so wäre, so würde damit für jene Beweisführung nicht viel gewonnen sein, denn dann hätte sich eben herausgestellt, dass sich im postfetalen Leben das lenkozytenbildende Gewebe in der Thymus jedenfalls beim Menschen bis zu einem Alter von gegen 40 Jahren erhält, während es z. B. in dem Diaphysenmark der Röhrenknochen um diese Zeit schon längst geschwunden ist.

Ein zweiter Einwand, der von den Gegnern der lokalen Entstehung zu erwarten sein dürfte und der auch bereits von Schridde Weidenreich gegenüber in der Diskussion zu seinem Vortrag (12) gemacht wurde, besteht darin, den normalen Charakter der vorliegenden Befunde und die Regelmässigkeit ihres Vorkommens anzuzweifeln; es könnte sich um zufällige Befunde bei „anämischen“ oder sonst blutkranken Individuen handeln. Dass das für unser Tiermaterial nicht zutreffen kann, bedarf keiner besonderen Beweisführung. Aber auch für das menschliche Material sind diese Bedenken abzuweisen. Die beiden 19- bzw. 37 jährigen Hingerichteten waren zuvor von den Gefängnisärzten beobachtet worden, völlig gesund und sehr gut genährt; die Sektion ergab keinerlei Anhaltspunkte für irgend eine Erkrankung und ausserdem standen uns sämtliche Organe zur mikroskopischen Untersuchung zur Verfügung; in keinem — auch nicht in den speziellen Blutorganen — waren abnorme Veränderungen konstatierbar. Die beiden 15- und 17 jährigen Verunglückten wurden mitten in ihrer normalen Arbeitstätigkeit von einem gewaltsamen Tode betroffen, also auch hier keinerlei Voraussetzung für eine Erkrankung des hämatopoïetischen Apparates. Dass aber auch von zufälligen Befunden keine Rede sein kann, folgt — abgesehen davon, dass doch auch ein solcher Zufall sehr merkwürdig wäre — aus der Tatsache, dass wir eben in allen menschlichen Thymen gesunder Individuen, die unmittelbar nach dem Tode zur Untersuchung gelangen konnten, Myelozyten und

Mitosen auffanden, und dass wir bisher schon über vier Fälle verfügen; da ferner die Ratte sich hierin genau so verhält wie der Mensch, und nach den Angaben Schaffers auch bei dem Maulwurf die gleichen Verhältnisse vorzuliegen scheinen, kann es sich nur um eine allgemeine Erscheinung handeln und nicht um vereinzelte rätselhafte Zufallsbefunde.

Eine zweite wesentliche Frage ist nun die nach der eigentlichen Herkunft der teilungsreifen Myelozytenformen. Steht man auf dem Standpunkt der Ehrlich'schen Lehre, dass im postfetalen Leben im zirkulierenden Blute nur fortpflanzungsunfähige gelapptkernige Formen kreisen, während die Myelozyten ausschliesslich auf das Knochenmark beschränkt sind, so kann man jene Elemente der Thymus logischerweise auch nicht als „Ausschwemmungsprodukte“ des Knochenmarks ansehen, die sich im Gewebe der Thymus festgesetzt haben. Es bleiben dann nur die beiden Möglichkeiten: einmal, dass die Myelozyten aus der embryonalen Zeit her — und für diese Lebensperiode wird ja das Vorkommen von Myelozyten in der Thymus auch von Schridde (11a) zugegeben — in der Thymus sich proliferationsfähig (wenigstens bis in das mittlere menschliche Lebensalter) erhalten, oder aber dass sie aus ungranulierten Formen sich dort selbständig entwickeln. Aber beide Eventualitäten wären eben unvereinbar mit der Lehre von der ausschliesslichen Bildung im Knochenmark. Dazu kommt aber noch ein bedeutungsvolles Moment. In den meisten Fällen, wo man unter normalen Verhältnissen die Bildung granulierter Leukozyten in Organen oder Geweben beobachtete, und stets im embryonalen Leben handelt es sich gleichzeitig um eine allgemeine Blutbildung, d. h. auch um eine Entstehung roter Blutkörperchen, was ja gerade für das Knochenmark und das sogenannte „myeloide“ Gewebe charakteristisch ist. In der Thymus dagegen gelang es nun in keinem der von uns untersuchten Fälle irgendwelche Anhaltspunkte für die gleichzeitige Bildung roter Blutkörperchen zu finden. Schaffer (93) will zwar früher an Ausstrichpräparaten kernhaltige rote Blutkörperchen in der Thymus nachgewiesen haben, aber an Schnitten — und das ist in diesem Fall sicher die einwandfrei Methode — sind sie bisher noch nicht beobachtet worden, und Hammar (05) bestreitet auch ihr Vorkommen ausdrücklich. Beim erwachsenen Menschen und

ebenso bei der Ratte fehlen sie jedenfalls; da auch die charakteristischen Riesenzellen des Knochenmarks vermisst werden und auch sonst der Gewebscharakter der Thymus ein durchaus anderer ist als der des Markes, kann von einem angeschwemmten „myeloiden“ Gewebe ebensowenig die Rede sein, wie etwa von einem ausschliesslichen isolierten Überbleibsel aus der Embryonalzeit.

Wer den Standpunkt vertritt, dass die Myelozyten nur auf dem Wege mitotischer Teilung sich vermehren und nur einmal im embryonalen Leben differenziert werden, ist jedenfalls gezwungen, ein Kreisen dieser Elemente im Blutstrom anzunehmen. Dass das letztere im Gegensatz zu der Ehrlichschen Lehre der Fall ist, hat Weidenreich (OSb) auch für den Menschen gezeigt. Aber wenn dem so ist, haben die Myelozyten eben erst recht ubiquitären Charakter und sind also nicht auf das Knochenmark beschränkt, und ebensowenig kann dann dieses Gewebe der primäre Ursprungsherd sein, weil ja schon im embryonalen Leben der ubiquitäre Charakter herrscht und das Mark hier erst sekundär Sitz der Blutbildung wird. Von welcher Seite man also auch das Problem betrachten mag, man kommt immer wieder zu dem Ergebnis, dass es sich um eine autochthone, also lokale Entstehung in der Thymus handeln muss.

Nun haben wir aber oben wiederholt darauf hingewiesen, dass die Myelozyten sich nicht nur durch Teilung in der Thymus vermehren, sondern dass sie auch aus ungranulierten Elementen ihren Ursprung nehmen. Das würde in völligem Einklang stehen mit der auch von Naegeli und Schridde als richtig anerkannten und von Weidenreich, Pappenheim u. a. vertretenen Lehre, dass die granulierten Leukozyten während des ganzen Lebens hindurch aus ungranulierten Formen hervorgehen. Nur sehen Naegeli, Schridde u. a. in diesen granulafreien Mutterelementen spezifische Knochenmarkszellen, die sie als „Myeloblasten“ bezeichnen, während sie nach Weidenreich, Maximow u. a. und zum Teil auch nach Pappenheim den lymphozytären Formen des lymphoiden Gewebes morphologisch und funktionell gleichwertig sind. Überall in der Thymusrinde, wo Myelozyten auftreten, kommen, wie wir zeigten, auch solche granulafreien Formen vor, die in ihren morphologischen Merkmalen durchaus jenen Zellen des Knochenmarks entsprechen; wir verweisen hier nur auf die Fig. 3 rzg

und 13 rzg. Nach der Naegeli-Schriddeschen Nomenklatur wären diese Elemente als „Myeloblasten“ zu bezeichnen. Die gleiche Frage, die wir oben schon für die Herkunft der Myelozyten in der Thymus erörterten, gilt dann aber auch für diese Formen. Stellt man sich auf den Naegeli-Schriddeschen Standpunkt, so müssten sie als charakteristische und ausschliessliche Bestandteile des „myeloiden“ Gewebes unter normalen Verhältnissen gleichfalls auf das Knochenmark beschränkt bleiben, könnten also in der Thymus überhaupt nicht vorkommen. Wir verweisen demgegenüber auf unsere oben gegebene Erörterung. Erkennt man aber im Gegensatz hierzu auch dem rein lymphoiden Gewebe und seinen Zellen die Fähigkeit zu, unter gewissen Umständen sich zu granulierten Elementen zu differenzieren, dann macht bei dem anerkannten ubiquitären Charakter der verschiedenen Lymphozytentypen die Erklärung ihres Auftretens in der Thymus keinerlei Schwierigkeit.

Wir haben bisher absichtlich nur von den eosinophilen und neutrophilen Elementen gesprochen und die Frage der Plasmazellen und Mastzellen zunächst in diesem Zusammenhang unberücksichtigt gelassen. Von beiden Zellarten aber konnten wir oben ausführlich nachweisen, dass sie in der Thymus selbst ihren Ursprung nehmen und zwar aus solchen Formen, die in ihrem morphologischen Gesamthabitus sich in nichts von den kleinen Thymuszellen unterscheiden. Indem diese Elemente ihre Protoplasamasse vergrössern, gehen sie entweder unter gleichzeitiger Umformung ihrer Kernstruktur in typische Plasmazellen über (Fig. 8), oder durch die Ausarbeitung basophiler Granula werden sie entweder direkt oder erst auf dem Umwege über den Plasmazellentypus zu Mastzellen (Fig. 15, 16), Zusammenhänge, auf die Downey die Aufmerksamkeit richtete. Dass die Plasmazellen nun aber umgewandelte Lymphozyten sind, wird heute von niemand mehr bestritten, während allerdings über die Ableitung der Mastzellen noch keine einheitliche Auffassung sich durchsetzen konnte. Soviel aber steht fest und wird auch von den meisten Autoren anerkannt, dass die eigentlichen Mastzellen — basophil granuliert Elemente des Bindegewebes — nicht ausschliesslich im Knochenmark entstehen, sondern „lokal“ aus Zellen von lymphozytärem Habitus. Es wurde schon oben darauf hingewiesen, dass Schaffer (08) die Tatsache, dass die kleinen

Thymuszellen sich in Plasmazellen umwandeln, für ausschlaggebend hält, um diese Thymuszellen für Lymphozyten zu erklären -- ohne Rücksicht auf ihre Genese. Wir schliessen uns hierin Schaffer vollständig an: die Thymusrindenzellen sind echte Lymphozyten, die zu Plasmazellen und nach unseren Untersuchungen auch zu Mastzellen werden können. Dass die gleichen Formen auch die Fähigkeit besitzen, in der Thymus eosinophile und neutrophile Leukozyten zu bilden, wurde bereits eingehend erörtert. Es ist hier unnötig, alle die Beweise nochmals anzuführen, die Weidenreich (11) für die Differenzierungsfähigkeit der echten lymphozytären Elemente beigebracht und zusammengestellt hat. Nach Weidenreichs Auffassung sind gerade auch die sogenannten kleinen Formen, die „Lymphozyten“ der Ehrlichschen Nomenklatur, imstande, durch Ausarbeitung bzw. Aufnahme von Granulationen zu granulierten Leukozyten zu werden; diese Formen lassen dann noch im granulierten Zustande die typische Struktur und Grösse des Lymphozytenkernes erkennen; es sei hier nur auf die entsprechenden Abbildungen Weidenreichs (11; Taf. A/B, Fig. 4h) verwiesen. Auch unsere Untersuchungen bringen hierfür weitere Belege. Auf die Plasmazellen (Fig. 8) und Mastzellen (Fig. 15 und 16) sei hierbei nochmals aufmerksam gemacht; bei einem Vergleich der Mastzellen in Fig. 15 und speziell in Fig. 16 *mz*₁₋₃ mit den umliegenden Thymusrindenzellen, d. h. Lymphozyten, fällt die gleiche Grösse und Struktur der Kerne ohne weiteres auf. Aber auch bei den eosinophilen und neutrophilen Elementen zeigt sich die gleiche Erscheinung. Wir geben in Fig. 10 (1—5) einzelne Typen dieser Zellen wieder, die wir aufs Geradewohl aus den Zellherden herausgegriffen haben; die Zelle 1 der Fig. 10 und ebenso die Zelle 3 zeigen in ihrem charakteristischen Kernhabitus die „kleine“ Lymphozytenform als Ausgangselement an, was übrigens auch noch in der Gesamtgrösse der Zelle zum Ausdruck kommt.

Neben diesen kleinen Myelozytentypen, die von den kleinen Zellen der Thymusrinde ihren Ausgang nehmen, findet man aber ebenso häufig grosse Formen, die in der Gesamtgrösse der Zelle, in der Grösse des Kernes und der mehr lockeren Anordnung ihres Chromatingerüstes an die typischen Myelozyten des Knochenmarks erinnern. Diese Elemente sind gleichfalls vielfach in den Übersichtsbildern hier wiedergegeben

worden; zum besseren Vergleich mit den kleinen Typen haben wir sie in Fig. 10 diesen gegenübergestellt: die Zelle 2 ist wie Zelle 1 ein neutrophiler Myelozyt, die Zelle 5 wie 3 ein eosinophiler und die Zelle 6 eine grosskernige Mastzelle. Nach Weidenreichs Auffassung, die wir auch hier bestätigt finden, gehen diese grossen Formen entweder direkt aus den entsprechenden oben geschilderten grösseren Thymusrindenzellen hervor, die eben den grösseren Lymphozytentypen entsprechen, oder sie wachsen aus den kleineren Elementen heran. Beide Formen sind aber mitotischer Teilung fähig, wenn auch die von uns gefundenen Mitosen der eosinophilen und neutrophilen Elemente (cf. Fig. 1, 2, 4, 12, 14) weitaus überwiegend den grossen Formen angehören. Dass auch die kleinen Mitosen zeigen können, beweist die Zelle 4 der Fig. 10. Gerade dieses Verhalten scheint uns wieder ein weiterer Beweis für die Ableitung der granulierten Elemente aus ungranulierten lymphozytären Formen zu sein, die in der Grösse beträchtlich variieren können und dann besondere Typen, die „kleinen“, „grossen“ und mittelgrossen Lymphozyten unterscheiden lassen. Die Umbildung der lymphozytären Elemente in granuliert kann von jedem dieser Typen ihren Ausgang nehmen: „die Fähigkeit, Granula im Plasma auszuarbeiten oder aufzunehmen“, sagt Weidenreich (11, S. 307), „ist an keine bestimmte Erscheinungsform der Lymphozyten gebunden“; sowohl die grossen wie die kleinen so entstehenden „Myelozyten“ werden durch Kernumwandlung zu den gewöhnlichen gelapptkernigen Leukozyten des strömenden Blutes.

Aus unseren Untersuchungen geht also hervor, dass die Thymusrindenzellen echte Lymphozyten sind und wie diese die Fähigkeit besitzen, sich zu Plasmazellen und granulierten Leukozyten — eosinophile und neutrophile sowie Mastzellen — zu differenzieren. Diese Umformung geht in der Thymus selbst vor sich und zwar noch im erwachsenen Organismus, wenn das eigentliche Thymusgewebe schon deutliche regressive Erscheinungen zeigt. In welchem Alter sie endet, konnten wir wegen Mangel geeigneten Materials bis jetzt nicht entscheiden. Sowohl die eosinophilen wie die neutrophilen Elemente vermehren sich ausserdem noch, ebenso wie im Knochenmark, durch mitotische Teilung. Darnach ist man also völlig berechtigt, die Thymus den leukozytenbildenden Organen einzureihen.

Der Gewebscharakter der Thymus.

Die ältere Auffassung hat die Thymus als eine Lymphdrüse bezeichnet. Wir wissen heute, dass weder ihre Entwicklung noch ihr Bau ein derartiges Rubrizieren rechtfertigt, sondern dass man sie in nahe Beziehungen zu bringen hat zu anderen lymphoiden Formationen des Organismus, die mit dem Epithelgewebe eine nähere Verbindung eingehen. Die Thymus entsteht beim Menschen und vielen Säugetieren hauptsächlich und in der Regel aus dem Epithel des ventralen Abschnittes der dritten Schlundtasche, doch können auch bei manchen Säugetieren noch die vierte oder auch die zweite sich mitbeteiligen. Nach Hammar (05, 07) und Maximow (09; 12a, b) wandern in diese epitheliale Anlage frühzeitig lymphozytäre Elemente ein, die den epithelialen Anteil zu einer Art Stroma auflockern und sich innerhalb desselben selbständig weiter vermehren; so wird die Thymus zu einem lympho-epithelialen Organ. Schon früher hat Grünwald auf die Analogie aufmerksam gemacht, die die Thymus ihrer Entwicklung nach mit der Tonsille zeigt; dieses Organ gehört nach Hammar (03) und Grünwald in seiner Anlage dem ventralen Abschnitt der zweiten Schlundtasche an; auch hier wird das Epithel durch einwandernde lymphozytäre Elemente — wenn auch nicht in dem Umfange wie bei der Thymus — aufgelockert und infiltriert und zu einem besonderen Organ mit lymphoidem Charakter umgewandelt. Berücksichtigt man, dass bei niederen Wirbeltieren die Thymus in ihrer Anlage aus dem Epithel sämtlicher Kiemenspalten hervorgeht, so wird die genetische Beziehung zwischen Thymus und Tonsille noch deutlicher. In neuester Zeit hat Jolly (13) eine Zusammenstellung all der lympho-epithelialen Gewebsdifferenzierungen und Organe gegeben, die sich im Darmtraktus nachweisen lassen; danach zeigt die Thymus die stärkste lymphoide Durchwachsung und die bedeutendste Sonderung und Verlagerung in bezug zu ihrem ursprünglichen epithelialen Mutterboden.

Für die Frage nach der besonderen Natur der Thymusrindenzellen, namentlich in Rücksicht auf die Möglichkeit ihrer granulären Differenzierung, sind diese Zusammenhänge von hervorragender Bedeutung. Einmal folgt daraus der rein lymphoide Charakter des entsprechenden Thymusgewebes und macht den Einwand hinfällig, dass granulozytenbildendes Gewebe

stets „myeloiden“ Charakter habe; dann aber werfen sie auch ein Licht auf die Art der Leukozytenproduktion in den Tonsillen. in denen nach Weidenreich (08a) innerhalb des rein lymphoiden Gewebes echte neutrophil granulierten Leukozyten gebildet werden, die das Epithel durchwandernd in Form der sogenannten Speichelkörperchen im Speichel auftreten.

Der Umfang, in dem sich die Thymus an der Leukozytenproduktion des Gesamtkörpers beteiligt, ist natürlich im einzelnen schwer festzustellen. Dass der Anteil an der Bildung der Lymphozyten ein beträchtlicher ist, folgt aus der Masse des Organs und den strotzend gefüllten Lymphgefäßen. Die Zahl der eosinophilen Leukozyten, die von der Thymus aus in den Körper gelangen, variiert ziemlich beträchtlich, aber das gilt nicht nur für die Thymus, sondern auch für die anderen Organe und Gewebe, in denen diese Zellen gebildet werden; im Knochenmark z. B., das nach der Ehrlichschen Annahme der alleinige Bildungsherd dieser Zellen sein soll, trifft man unter Umständen die eosinophilen Leukozyten sehr zahlreich, und in anderen Fällen hat man Mühe, überhaupt welche aufzufinden. Das gleiche gilt auch für die neutrophilen Leukozyten der Thymus und die Mastzellen. Die Thymus ist also jedenfalls in die Zahl der Organe einzureihen, die noch im erwachsenen Organismus granulierten Leukozyten produzieren.

Herrn Professor Schwalbe danke ich verbindlichst für die Überlassung der Hilfsmittel des Anatomischen Instituts und ebenso Herrn Professor Weidenreich für die Anregung zu der vorliegenden Arbeit und für seine Unterstützung bei ihrer Ausführung.

Literaturverzeichnis.

- Affanassiew, B., 1877: Weitere Untersuchungen über den Bau und die Entwicklung der Thymus und die Winterschlagdrüse der Säugetiere. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 14.
- Barbano, C., 1912: Die normale Involution der Thymus. Virchows Arch., Bd. 207, S. 1.
- Basch, K., 1906: Beiträge zur Physiologie und Pathologie der Thymus. Jahrb. f. Kinderheilk., Neue Folge, Bd. XIV.
- Bell, E. T., 1906: The Development of the Thymus. The Americ. Journ. of Anat., Vol. 5.
- v. Braunschweig, R., 1891: Experimentelle Untersuchungen über das Verhalten der Thymus bei der Regeneration der Blutkörperchen. Dorpat.
- Cheval, M., 1908: Recherches sur les lymphocytes du Thymus. Bibliogr. Anat., T. 17.
- Downey, H., 1911: Die Entstehung von Mastzellen aus Lymphozyten und Plasmazellen. Verh. Anat. Ges., Leipzig 1911.
- Downey, H. und Weidenreich, F., 1912: Über die Bildung der Lymphozyten in Lymphdrüsen und Milz. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 80.
- Dudgeon, L. S., 1905: A contribution to the pathology of the thymus gland. Journ. of Pathol. and Bacteriol., Vol. 10, p. 173.
- Dustin, A. P., 1909: Contribution à l'étude du thymus des Reptiles. C. R. Assoc. d. Anat., Nancy.
- Derselbe, 1911: Le thymus de l'axolotl. Arch. d. Biologie, T. 26.
- v. Ebner, V., 1902: Von der Thymus. Köllikers Handbuch der Gewebelehre des Menschen, 6. Aufl., Bd. 3, S. 328.
- Ehrlich, P. und Lazarus, A., 1898: Die Anaemie. 1. Abt.: Normale und pathologische Histologie des Blutes, 1. Aufl.
- Fox, H., 1908: The pharyngeal pouches and their derivatives in the mammalia. Americ. Journ. of Anat., Vol. 8, p. 187.
- Fritsche, 1910: Die Entwicklung der Thymus bei Selachiern. Jenaische Zeitschr. f. Naturw., Bd. 46, H. 1.
- Grünwald, L., 1910: Ein Beitrag zur Entstehung und Bedeutung der Gaumenmandeln. Anat. Anz., Bd. 37, S. 150.
- Ghika, Ch., 1901: Étude sur le Thymus. Thèse, Paris.
- Hammar, J. A., 1903: Studien über die Entwicklung des Vorderdarmes und einiger angrenzender Organe. II. Abt.: Das Schicksal der zweiten Schlundspalte. Zur vergleichenden Embryologie und Morphologie der Tonsille. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 61.
- Derselbe, 1905: Zur Histologie und Involution der Thymus. Anat. Anz., Bd. 27.
- Derselbe, 1906: Über Gewicht, Involution und Persistenz der Thymus im Postfötalleben des Menschen. Arch. f. Anat. u. Phys., Anat. Abt.
- Derselbe, 1907: Über die Natur der kleinen Thymuszellen. Arch. f. Anat. u. Phys., Anat. Abt.

- Hammar, J. A., 1908: Zur Kenntnis der Teleostier-Thymus. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 73.
- Derselbe, 1909a: Der gegenwärtige Stand der Morphologie und Physiologie der Thymusdrüse. Verh. d. Intern. Ärzte-Kongresses, Budapest.
- Derselbe, 1909b: 50 Jahre Thymusforschung. Erg. d. Anat. u. Entwicklungsgeschichte, Bd. 19.
- Hart, C., 1912: Thymusstudien. II. Die Thymuselemente. Virchows Arch., Bd. 210, S. 255.
- Hirschfeld, H., 1897: Beiträge zur vergleichenden Morphologie der Leukozyten. Virchows Arch., Bd. 149, S. 22.
- Jolly, J., 1899/1900: Recherches sur la division indirecte des cellules lymphatiques granuleuses de la moelle des os. Arch. d'Anat. micr., T. 3.
- Derselbe, 1913: Sur les organes lympho-épithéliaux. C. R. Soc. de Biologie, T. 74, p. 540.
- Kanthack, A. A. and Hardy, W. B., 1894/1895: The Morphology and Distribution of the wandering cells of mammalia. Journ. of Phys., Vol. 17.
- Kölliker, A., 1879: Embryologische Mitteilungen. 5. Zur Entwicklung der Thymus. Festschr. z. Feier d. 100jähr. Bestandes d. naturf. Ges. in Halle a. S., Halle.
- Laurell, H., 1908: Zum Vergleich der Lymphozyten innerhalb und ausserhalb der Thymus. (Zitiert nach Hammar.)
- Letulle, M. et Nattan-Larrier, 1902: Identification de certains éléments constitutifs du Thymus. II. Les éléments à protopl. basophile et homogène. C. R. Soc. Biol., 1902, p. 619.
- Levin, S., 1912: Recherches experimentales sur l'Involution du Thymus. Travail du Laboratoire d'Histologie du Collège de France.
- Lewis, Th., 1905: The Avian Thymus. Journ. of Phys., Proceedings, p. XL.
- Magni, S., 1903: Über einige histologische Untersuchungen der normalen Thymusdrüsen eines fünfmonatlichen und eines reifen Fötus. Arch. f. Kinderheilk., Bd. 38.
- Marcus, H., 1907: Über die Thymus. Lebenslauf einer Thymuszelle. Verh. d. Anat. Ges. Würzburg.
- Derselbe, 1908: Beiträge zur Kenntnis der Gymnophionen I. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 71.
- Matsunaga, 1910: Über die parenchymatösen Lymphgefässe der Thymus. Arch. f. Anat. u. Phys., Anat. Abt.
- Maurer, F., 1888: Schilddrüse, Thymus und Kiemenreste der Amphibien. Morph. Jahrb., Bd. 14.
- Derselbe, 1899: Die Schilddrüse, Thymus und andere Schlundspaltenderivate bei der Eidechse. Morph. Jahrb., Bd. 27.
- Derselbe, 1902: Die Entwicklung des Darmsystems. Hertwigs Handbuch d. vergl. u. experim. Entwicklungsgesch., Bd. 2.
- Maximow, A., 1906: Über die Zellformen des lockeren Bindegewebes. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 67, S. 680.

- Maximow, A., 1909: Untersuchungen über Blut und Bindegewebe. II. Über die Histogenese der Thymus bei Säugetieren. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 74., S. 525.
- Derselbe, 1912a: Untersuchungen über Blut und Bindegewebe. IV. Über die Histogenese der Thymus bei Amphibien. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 79.
- Derselbe, 1912b: Untersuchungen über Blut und Bindegewebe. V. Über die embryonale Entwicklung der Thymus bei Selachiern. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 80.
- de Meuron, P., 1886: Recherches sur le développement du thymus et de la glande thyroïde. Recueil zool. suisse, T. 3, auch Diss. Genève.
- Mietens, H., 1908: Zur Kenntnis des Thymusretikulum und seiner Beziehungen zu dem der Lymphdrüsen, nebst einigen Bemerkungen über die Winterschlagdrüse. Jenaische Zeitschr. f. Naturw., Bd. 24.
- Derselbe, 1910: Entstehung der weissen Blutkörperchen und der Milz bei *Bufo vulgaris*. Jenaische Zeitschr. f. Naturw., Bd. 46.
- Pappenheimer, A. U., 1913: Further Studies of the Histology of the Thymus. The American Journ. of Anat., Vol. 14, p. 299.
- Prenant, A., 1894: Contribution à l'étude du développement organique et histologique du Thymus, de la glande thyroïde et de la glande carotidienne. „La Cellule“, Tome X.
- Rabl, C., 1886: Zur Bildungsgeschichte des Halses. Prager Med. Wochenschrift, Bd. 11, Nr. 52.
- Retterer, Ed., 1893: Des glandes closes dérivées de l'épithélium digestif. Journ. de l'Anat. et de la Physiol., Année 29.
- Roger, H. et Ghika, C., 1900: Recherches sur l'anatomie normale et pathologique du Thymus. Journ. de Phys. et de Path. génér., T. 2.
- Saint-Rémy, G. et Prenant, A., 1904: Recherches sur le développement des dérivés branchiaux chez les Sauriens et les Ophidiens. Arch. d. Biol., T. 20.
- Schaffer, J., 1891: Über das Vorkommen eosinophiler Zellen in der menschlichen Thymus. Zentralbl. f. d. med. Wiss.
- Derselbe, 1893: Über den feineren Bau der Thymus und deren Beziehungen zur Blutbildung. Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wiss., Math.-Naturw. Kl., III. Abt., Bd. 102.
- Derselbe, 1908: Über Thymus und Plasmazellen. Zentralbl. f. Phys., Bd. 22.
- Derselbe, 1910: Die Plasmazellen. Sammlung anat. u. phys. Vorträge u. Aufsätze, H. 8.
- Schaffer, J. und Rabl, C., 1909a: Das thyreo-thymische System des Maulwurfes und der Spitzmaus. 1. Teil, Abschnitt A. Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wiss. in Wien, Math.-Naturw. Kl., III. Abt., Bd. 117.
- Dieselben, 1909b: Das thyreo-thymische System des Maulwurfes und der Spitzmaus. 1. Teil, Abschnitt B. Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wiss. in Wien, Math.-Naturw. Kl., III. Abt., Bd. 118.
- Schedel, J., 1885: Zellvermehrung in der Thymusdrüse. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 24.

- Schridde, H., 1911a: Die Bedeutung der eosinophil gekörnten Blutzellen in der menschlichen Thymus. *Münchener Med. Wochenschr.*, Nr. 49.
- Derselbe, 1911b: Abschnitt Thymus in Aschoffs Lehrbuch der Path. u. Anat., 2. Aufl., 2. Bd.
- Schultze, O., 1897: Grundriss der Entwicklungsgeschichte des Menschen und der Säugetiere. Leipzig.
- Severeanu, G., 1909: Die Lymphgefäße der Thymus. *Arch. f. Anat. u. Phys., Anat. Abt.*
- Stieda, L., 1881: Untersuchungen über die Entwicklung der Glandula-Thymus, Glandula thyreoidea und Glandula carotica.
- Stöhr, Ph., 1905: Über die Thymus. *Sitzungsber. d. phys.-med. Ges. zu Würzburg.*
- Derselbe, 1906: Über die Natur der Thymuselemente. *Anat. Hefte*, Bd. 31.
- Derselbe, 1910: Über die Abstammung der kleinen Thymusrindenzellen. *Anat. Hefte*, Bd. 41.
- Sultan, G., 1896: Beitrag zur Involution der Thymus. *Virchows Arch.*, Bd. 144.
- Tuve, E., 1904: Über die sogenannten Duboisschen Thymusabscesse. *Diss. Leipzig.*
- Ver Eecke, A., 1899: Structure et modifications fonctionnelles du thymus de la grenouille. *Bullet. de l'Acad. Royale de Méd. de Belgique.*
- Watney, A., 1878: Note on the Minute Anatomy of the Thymus. *Proceed. Roy.-Soc.*, Vol. 27.
- Derselbe, 1882: The Minute Anatomy of the Thymus. *Philos. Transactions of the Roy.-Soc.*, Vol. 173, pt. III.
- Weidenreich, F., 1908a: Über Speicheldrüsenkörperchen. Ein Übergang von Lymphozyten in neutrophile Leukozyten. *Fol. hämat.*, Bd. 5, S. 1.
- Derselbe, 1908b: Zur Kenntnis der granulierten Leukozyten. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. 72.
- Derselbe, 1909: Zur Morphologie und morphologischen Stellung der ungranulierten Leukozyten — Lymphozyten des Blutes und der Lymphe. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. 73.
- Derselbe, 1911: Die Leukozyten und verwandte Zellformen. Wiesbaden.
- Derselbe, 1912: Die Thymus des erwachsenen Menschen als Bildungsstätte ungranulierter und granulierter Leukozyten. *Münchener Med. Wochenschrift*, Nr. 48.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel XVII u. XVIII.

Über Fixation und Färbung der Präparate ist das Nähere im Text unter Material und Untersuchungsmethoden nachzusehen. Die Abkürzungen bedeuten: G = Romanowsky-Färbung nach Giemsa; MP = Färbung mit Methylgrün-Pyronin nach Pappenheim; HE = Färbung mit Hämalaun und Eosin. Die Zeichnungen sind durchweg auf Objekttischhöhe aufgenommen, wo nicht anders vermerkt: mit Zeiss Apochr. 2 mm und Ok. 8.

el = eosinophiler Leukozyt.	rz = Thymusrindenzelle.
emy = eosinophiler Myelozyt.	rzg = grössere Thymusrindenzelle
m = Mitose.	sl = Spezial-Leukozyt.
mz = Mastzelle.	smy = Spezial-Myelozyt.
pz = Plasmazelle.	

Tafel XVII.

- Fig. 1. Herd eosinophiler Leukozyten in der Rinde der Ratte. HE, Ok. 6.
 Fig. 2. Dasselbe. G.
 Fig. 3. Eosinophile Myelozyten und umgebende Zellen aus der Rinde — Ratte. HE.
 Fig. 4. Eosinophile Leukozyten (Mitose) in der Rinde — Ratte. HE.
 Fig. 5. Thymusrindenzellen mit stark basophilem Plasma und Abschnürungen — Ratte. MP.
 Fig. 6. Spezial-Leukozyten in verschiedenen Stadien der Kernumbildung aus der Rinde — Ratte. G.
 Fig. 7. Spezial-Leukozyten (Myelozyten-Typus) in der Rinde — Ratte. G.
 Fig. 8. Herd von Plasmazellen aus der Rinde — Ratte. MP.
 Fig. 9. Herd eosinophiler Leukozyten aus dem Rindengebiet der menschlichen Thymus — 17-jähriger Verunglückter. G, Ok. 6.
 Fig. 10. Typen einzelner Myelozyten aus der menschlichen Thymus. G.
 1 = kleiner neutrophiler Myelozyt von 17-jährigem Verunglückten;
 2 = grosser neutrophiler Myelozyt von 17-jährigem Verunglückten;
 3 = kleiner eosinophiler Myelozyt von 19-jährigem Hingerichteten;
 4 = das gleiche in Mitose von 19-jährigem Hingerichteten;
 5 = grosser eosinophiler Myelozyt von 37-jährigem Hingerichteten;
 6 = Mastzelle von 17-jährigem Verunglückten.

Tafel XVIII.

- Fig. 11. Mitose eines eosinophilen Leukozyten aus der Thymus eines 37-jährigen Hingerichteten. G.¹⁾
 Fig. 12. Herd neutrophiler Leukozyten im Randgebiet der Thymusrinde vom 37-jährigen Hingerichteten. G, Ok. 6.
 Fig. 13. Herd neutrophiler Myelozyten in der Rinde (Markgrenze) — 17-jähriger Verunglückter. G.

¹⁾ Die Granula sind in der Reproduktion zu rot ausgefallen.

- Fig. 14. Mitose eines neutrophilen Leukozyten in der Rinde — 37 jähriger Hingerichteter. G.
- Fig. 15. Mastzellen in der Entwicklung aus dem Rindengebiet — 37 jähriger Hingerichteter. MP.
- Fig. 16. Desgleichen vom 17 jährigen Verunglückten. G.
- Fig. 17. Lymphgefäß im interlobulären Bindegewebe der Thymus — 17 jähriger Verunglückter. HE, Apochr. 4 mm, Okul 6; lg = Lymphgefäß; v = Vene.

Aus der Anatomischen Anstalt zu Tübingen.

Plasmafibrillen und Chondriokonten in den Stäbchenepithelien der Niere.¹⁾

Von

Dr. A. N. Mislawsky aus Kazan.

Hierzu Tafel XIX.

Die von Meves (07, 08) am jungen Hühnerembryo ausgeführten Untersuchungen stellten die Gegenwart fädiger Formen der Chondriosomen in den Zellen sämtlicher drei Keimblätter fest. Diese Untersuchungen gaben den Anstoss zu einer Revision der Lehre von den fibrillären Differenzierungen des Protoplasmas: es erschienen im Laufe des letztverflossenen Dezenniums eine grössere Reihe von Arbeiten, welche sich teils damit beschäftigten, die direkte Identität des fädigen Cytomitoms mit der Summe der Chondriokonten darzutun, zum anderen Teile aber, wie bei den Muskel- und Nervenfibrillen, die genetische Ableitung der betreffenden faserförmigen Differenzierungen von den Chondriokonten der Embryonalzellen annehmbar zu machen.

Meves (07, 10) prüfte das Chondriom an den nämlichen Objekten, die seinerzeit Flemming als Substrat seiner klassischen Theorie der Filarstruktur gedient hatten.²⁾ Hierbei gewann der Autor die bestimmte Überzeugung, dass die von Flemming in der lebenden Zelle beobachteten Fädchen nichts anderes sind, als die jetzt sogenannten Chondriokonten. Früher bereits waren M. et P. Bouin (05) zu dem Ergebnisse gelangt, dass die in den serösen Speicheldrüsenzellen mehrfach beschriebenen fibrillären Gebilde („ergastoplasme“ Garniers, „Basalfilamente“ nach Solger) ebenfalls einen mitochondrialen Charakter besitzen (eine Ansicht, welcher nachträglich auch der Begründer der Ergastoplasmatheorie, Prenant [10], sich anschloss). Zu einer

¹⁾ Eingereicht bei mir im Februar 1913. M. Heidenhain.

²⁾ Ruhende Knorpelzellen, sternförmige, verästelte Bindegewebszellen, Epithelzellen der Schwanzflosse und der Kiemen von der Salamanderlarve, Leberzellen des Frosches, Lymph- und Wanderzellen usw.

ähnlichen Schlussfolgerung kommt Champy (09, 11, siehe auch Hoven [12]) hinsichtlich der Faserstruktur des basalen Teiles der Pankreaszelle und ebenso beurteilt er auch die von M. Heidenhain in den Darmepithelzellen des Frosches beschriebenen Fibrillen. Ein gleiches Los traf die seit R. Heidenhains Zeiten bekannte Stäbchenstruktur des Epithels der Nierenkanälchen und die analogen Strukturen der Pflügerschen Speicheldrüsen. In den genannten Epithelien wurde zuerst von Benda (03), darauf von Policard (05 I und II, 10), Champy (09), O. Schultze (11, Niere), Regaud et Mawas (09, Speicheldrüsen) die Anwesenheit zahlreicher, parallel gelagerter Chondriokonten nachgewiesen und die Ansicht adoptiert, dass sie es sind, durch deren Gegenwart die in Frage stehende charakteristische streifige Struktur bedingt wird.

Was die zweite Gruppe der oben von mir erwähnten Untersuchungen betrifft, d. h. diejenigen, welche den histogenetischen Konnex gewisser faseriger Plasmastrukturen mit den Elementen des embryonalen Chondrioms festzustellen suchen, so verweisen wir beispielsweise auf die Arbeiten von Meves (07), Duesberg (10) und Schockaert (09) über die Myogenese, welche die mitochondriale Herkunft der Myofibrillen befürworten, und ebenso auf die Arbeit Hovens (10) über die erste Entstehung der Neurofibrillen.

Danach sind die Vertreter der in Rede stehenden Ideenrichtung geneigt, fast ¹⁾ sämtliche fibrillären Differenzierungsformen des Protoplasmas, alles, was Flemming als Substrat für dessen Filarmasse gedient hatte, entweder mit dem Mitochondrialapparate zu identifizieren oder ihren Ursprung von einer Metamorphose desselben abzuleiten. Ein besonderes Interesse beanspruchen aus diesem Grunde einige bis jetzt noch vereinzelt dastehende Beobachtungen, denen zufolge gelegentlich in ein und derselben Zelle gleichzeitig ein reichlich entwickeltes mitochondriales System und neben diesem eine ganz bestimmt ausgeprägte, präformierte Faserstruktur des Plasmas wahrgenommen wird.

Wie erwähnt, ist die Zahl dieser Beobachtungen bis jetzt eine noch sehr spärliche. So gelang es Regaud et Mawas

¹⁾ Als zweifellos filare Plasmastruktur, unabhängig vom Chondriom, betrachtet Meves nur die Fäden der mitotischen Spindel und die Polstrahlungen sich teilender Zellen (Meves [07]).

(09) im Gegensatze zu M. et P. Bouin, sich davon zu überzeugen, dass in den serösen Zellen der Speicheldrüsen neben unzweifelhaften Elementen des Chondrioms und unabhängig von denselben ein besonderes System charakteristischer fädiger Gebilde existiert; diese letzteren werden von den Autoren mit dem „Ergastoplasma“ von Garnier identifiziert. Hier möchte ich auch erwähnen, dass Perroncito (11) in den Geschlechtszellen bei *Paludina vivipara* gleichzeitig mit den Chondriosomen einen scharf individualisierten, netzig fibrillären Apparat, den Apparato reticolare von Golgi, darstellen konnte. Ich selbst habe in dem Leibe der Pankreaszellen des Kaninchens (Arch. f. mikr. Anat., Bd. 81, 1913) eine deutlich ausgeprägte fibrilläre Plasmastruktur aufgefunden, welche sich neben den Chondriokonten demonstrieren lässt und mit denselben nichts gemein hat.

In der vorliegenden kleinen Mitteilung möchte ich feststellen, dass in den Stäbchenepithelien der Niere neben und zwischen den Chondriokonten und diesen parallel gelagert besondere Plasmafibrillen in grosser Zahl sich finden; demnach könnte man die für die genannten Epithelien so charakteristische Streifung mit demselben Rechte auf die erwähnte plasmatische Fibrillärstruktur beziehen, während man zurzeit fast allgemein glaubt, dass die fragliche Streifung lediglich durch die Chondriokonten bedingt wird.

Als Untersuchungsobjekte dienten mir hauptsächlich jene Stäbchenepithelien der Froschniere (*Rana fusca*), welche durch das Fehlen des Bürstenbesatzes sich näher charakterisieren (Abschnitt IV der Harnkanälchen nach Gaupps Nomenklatur).¹⁾

Das Chondriom dieser Epithelien ist seinerzeit sehr ausführlich von Policard (10) bei *Rana temporaria* und neuestens auch von Levi (12) bei *Geotriton fuscus* studiert worden, wobei die Darstellungen dieser beiden Autoren sich in den Hauptzügen decken. Nach Policard besteht das Chondriom an dem gedachten Orte aus einer Summe feiner, spezifisch nach Benda sich farbender Fädchen, welche nie miteinander anastomosieren und stets in ihrer ganzen Ausdehnung durch eine gewisse Menge Protoplasmas voneinander geschieden werden; diese Fädchen

¹⁾ Auch an Säugetieren wurden Untersuchungen von mir ausgeführt und die hierbei erhaltenen Resultate decken sich im allgemeinen mit den oben referierten Befunden beim Frosch.

ziehen parallel miteinander dahin und durchsetzen die Zelle entsprechend ihrer Höhenausdehnung von ihrer Basis angefangen bis zur „Membrana tectoria“; diese Fädchen sind ferner nach Policard zu besonderen Bündelchen zusammengelagert, deren Querdurchschnitte (an Tangentialschnitten der Harnkanälchen) den Eindruck Cohnheimscher Felder erwecken. Besonders bemerkenswert ist, dass, wie der Autor feststellte, nach einer bestimmten Fixierung, welche das Chondriom erfahrungsgemäss nicht zu konservieren pflegt, die Streifung des Epithels im IV. Abschnitte dennoch deutlich erhalten blieb (Plasmafibrillen! d. Ref.) und sich in sauren Anilinfarben darstellen liess, während dagegen in den Epithelien der anderen Abschnitte (wie z. B. des zweiten) von der Streifung keine Spur übrig geblieben war; zur Erklärung dieser Erscheinung fand sich der Autor gezwungen, eine besondere Resistenzfähigkeit des Chondrioms der Drüsenzellen des IV. Abschnittes anzunehmen.¹⁾

Ich gehe nun zu meinen eigenen Untersuchungen über. Vor allem ein paar Worte über die Technik. Die dem lebenden Frosche entnommene Niere wurde frisch in Stückchen zerteilt und einige derselben in solche Mischungen gebracht, welche die Elemente des Chondrioms gut konservieren; andere wurden gleichzeitig mit Flüssigkeiten behandelt, die zwar die Zellstruktur im allgemeinen gut fixieren, die Chondriosomen jedoch auflösen. Zu dem erstgenannten Zwecke bediente ich mich hauptsächlich einer bereits früher von mir (11) beschriebenen Mischung, deren Zusammensetzung die folgende ist: Sol. Kalibichrom. 3% — 80,0; Formalini 20,0; Ac. osmic. 2% — 2,5. Die auf solche Art fixierten Stücke wurden weiterhin nach Regaud chromiert. Recht gute Resultate erhielt ich gleichfalls mit Maximows Gemisch, obwohl diese Fixierung im ganzen unsicher ist und ausserdem auch auf die nachfolgende Färbung ungünstig wirkt. Behufs Fixierung der Stückchen der zweitgenannten Gruppe (mit Auflösung der Chondriosomen) blieb ich schliesslich bei der Formol-Zenker-Mischung (Zenkers Flüssigkeit 95 Teile; Formalin 10 Teile) stehen; diese Lösung fixiert die Epithelien der Harnkanälchen vortrefflich, doch bewirkt sie dank dem grossen Essigsäuregehalt eine vollständige Auflösung der Chondriosomen.

¹⁾ Vergl. Regaud et Mawas (09) — über die Resistenzfähigkeit der Chondriosomen im Epithel der Pflügerschen Röhren gegen Essigsäure.

Nach beendeter Fixierung wurden die Stückchen sämtlich in Wasser ausgewaschen und wie gewöhnlich in Paraffin eingebettet (Schnittdicke nicht über $4\ \mu$). Zur Demonstration der Chondriosomen in den Präparaten der ersten Gruppe wurden die Schnitte nach Benda oder aber nach M. Heidenhains Eisenhämatoxylinmethode gefärbt. Was die Präparate aus dem Zenker-Formol-Gemisch betrifft, so färbte ich dieselben vorwiegend in Eisenhämatoxylin, bisweilen unter Nachfärbung in Chromotrop, Benzopurpurin und anderen ähnlich gearteten alkohollöslichen Farbstoffen (nach M. Heidenhain); sollte die Abwesenheit der Chondriosomen festgestellt werden, so wurde auch hier nach Benda gefärbt.

Ich gehe nun zu meinen Beobachtungen über. Die Präparate mit Darstellung des Chondrioms zeigten letzteres in prächtiger Weise in sämtlichen Abschnitten der Harnkanälchen. Was insbesondere den uns interessierenden IV. Abschnitt betrifft, so stimmen meine Beobachtungen im allgemeinen mit den soeben zitierten Beschreibungen Policards überein, wie man an meinen Fig. 1 und 3 hinlänglich erkennen kann. Indes muss ich hier einen überaus wichtigen Punkt hervorheben, der dem genannten Autor entgangen ist: an allen meinen Präparaten¹⁾ fand ich, dass die Chondriokonten mit ihrem Basalteile nie bis an die Membrana propria des Harnkanälchens (bzw. die untere Grenzschicht der Zelle) heranreichten, so dass in dem basalen Teile des Zellkörpers stets eine mehr oder weniger schmale, chondriosomenfreie Zone konstatiert werden konnte (Fig. 1); in dem distalen Teile der Zelle, unmittelbar unter der Membrana tectoria,²⁾ kam gleichfalls eine schmale Zone zur Beobachtung, die keine Chondriosomen enthielt.³⁾ Wenn ich jetzt zu den Details übergehe, so ist zu notieren, dass an meinem Objekte weder eine chondriosomenfreie Zone in der Nachbarschaft des Kernes, wie sie Policard beschreibt, noch eine von demselben Autor beschriebene bündelförmige Anordnung der Chondriokonten konstatiert werden konnte: an meinen Präparaten (Fig. 1

¹⁾ Die besagte Erscheinung habe ich desgleichen auch in den Epithelien der Tub. renales contorti der Maus beobachtet.

²⁾ Nach Policards Nomenklatur.

³⁾ In den Abbildungen Lewis (12) tritt bei *Geotriton fuscus* ein dem beschriebenen ähnliches Verhalten der Chondriokonten ungemein deutlich hervor.

und 3) waren die Chondriokonten mehr oder weniger gleichmässig über das ganze Zellprotoplasma hin verteilt und stimmen daher meine Beobachtungen in dieser Beziehung mehr mit denen von Levi (12) bei *Geotriton* überein. Ferner kamen gelegentlich autolytische Veränderungen des Chondrioms (im Epithel des IV. Abschnittes des Harnkanälchens) zum Vorschein, und zwar in Gestalt einer Fragmentierung der Chondriokonten; diese schreibe ich jedoch meinerseits lediglich der Einwirkung der fixierenden Reagentien zu.

In ihren Konturen zeigten die Chondriokonten an gut fixierten Präparaten stets einen etwas welligen Verlauf; mitunter, obschon nur in seltenen Fällen, waren diese welligen Windungen sehr scharf ausgeprägt. Schliesslich bestätige ich die Beobachtung Policards, dass bei diesem Objekte weder Anastomosen zwischen den einzelnen Chondriokonten noch auch freie Verzweigungen derselben vorkommen.

Ein durchaus anderes Bild boten die Präparate dar, welche in Formol-Zenker fixiert und darauf sei es gleichfalls nach Benda oder aber in Eisenhämatoxylin oder endlich in Delafields Hämatoxylin gefärbt und mit einer sauren Anilinfarbe nachbehandelt worden waren. Vor allem fiel hier die gänzliche Abwesenheit der Chondriosomen in den Epithelzellen sämtlicher Abschnitte der Harnkanälchen ins Auge. So erschien beispielsweise das Protoplasma der Epithelien des I. Abschnittes, bei wohl erhaltenem Bürstenbesatze, homogen, etwas vakuolisiert und enthielt nur eine spärliche Menge typischer Sekretgranula. Was den IV. Abschnitt anbelangt, so kennzeichneten sich die Durchschnitte desselben im Präparate in auffälliger Weise durch die deutlich ausgesprochene Streifung seiner Epithelbekleidung. Bei der Untersuchung solcher Präparate mit Hilfe sehr starker Vergrösserungen (Zeiss, Apoehr. 3,0 mm, Ap. 1,40, Komp.-Ok. 18) konnte ich mich überzeugen (siehe Fig. 2, 2a und 4), dass diese deutlich sichtbare Streifung der Anwesenheit sehr feiner protoplasmatischer Fibrillen ihren Ursprung verdankt; diese Fibrillen sind in alizarinsaurem Natron nach Benda, sowie in sauren Anilinfarben gut tingierbar und nehmen in Eisenhämatoxylin eine hellgraue Nuance an. Sehr charakteristisch für diese Fäserchen ist, dass dieselben an der Zellbasis selbst, in unmittelbarer Nähe der Membrana propria des Kanälchens, also wohl an

der äusseren Grenzschicht der Zelle, beginnen und nachdem sie ähnlich wie die Chondriokonten den Zellkörper vertikal aufsteigend durchsetzt haben, dicht unter dessen Membrana tectoria enden. Diese Fibrillarstruktur erscheint ausserordentlich viel zarter als die oben von uns beschriebene durch die Chondriokonten bedingte Streifung, und es scheint, dass ihre Fäserchen im Vergleich mit letzteren weniger gut individualisiert sind; häufig anastomosieren sie miteinander an der Zellbasis und treten in ihrem weiteren Verlaufe zu Bündeln zusammen. An Schnitten, welche die Wand des Kanälchens tangential (Fig. 4) getroffen haben, stossen wir auf eine Erscheinung, wie sie bereits von Zimmermann (98) an einer ganzen Reihe drüsiger Organe, sowie auch von M. Heidenhain (11) an der Niere der Maus beobachtet worden ist: anstatt punktförmiger Querschnitte der einzelnen Filamente treffen wir auf eine Streifung des Zellprotoplasmas. In unserem Falle (Fig. 4) zeigte sich diese Streifung nicht streng in irgend einer bestimmten Richtung orientiert, wie man dies aus unserer Abbildung ersehen kann, obgleich ihr eine gewisse Tendenz innewohnt, sich mehr oder weniger parallel zur Querrichtung des Kanals einzustellen. Diese Erscheinung zwingt uns, in Übereinstimmung mit M. Heidenhain, eine lamelläre Anordnung der soeben von uns beschriebenen Protoplasmafilamente anzunehmen.

Im allgemeinen zeigen die Zellen an den von uns zuletzt beschriebenen Präparaten gleichsam einen lockeren Bau, ein Umstand, der uns durchaus erklärlich erscheint, wenn wir bedenken, welch eine grosse Menge Zellsubstanz mit der Lösung des Chondrioms aus der Zelle geschwunden ist.

Vergleichen wir nun die soeben beschriebenen Plasmafibrillen des IV. Abschnittes der Harnkanälchen mit den ebendort befindlichen Chondriokonten, so kommen wir alsbald zur Überzeugung, dass von einer Identität der beiden Faserarten nicht die Rede sein kann: dagegen sprechen erstlich ihre morphologischen Besonderheiten, zweitens ihr sehr verschiedenes Verhalten gegenüber fixierenden und färbenden Agentien und drittens — was die Hauptsache ist — die besondere Differenz in der topographischen Anordnung der beiden Faserarten innerhalb des Territoriums der Zelle. Denn die Chondriokonten sind in das Zellplasma eingelagert und berühren die basale Grenzschicht

nicht, während die Plasmafibrillen letztere erreichen und mit ihr untrennbar verschmelzen. Danach müssen wir also konstatieren, dass in den „Stäbchenepithelien“ der Niere zwei voneinander gänzlich verschiedene fibrilläre Struktursysteme vorhanden sind, deren Elemente parallel zueinander gestellt sind. In Fig. 5 gebe ich ein Schema des gegenseitigen Verhaltens dieser beiden Strukturen in der Weise, wie ich es mir auf Grund meiner oben dargelegten Beobachtungen vorstelle: aus dem Schema ist ersichtlich, dass die Chondriokonten zwischen den von uns beschriebenen Protoplasmafilamenten liegen können und dass sie also eine interfilare Lage einnehmen.¹⁾

Wenden wir uns nochmals zu den literarischen Daten, so muss darauf hingewiesen werden, dass die von mir im Epithel des IV. Abschnittes der Harnkanälchen beim Frosch beschriebene fibrilläre Protoplasmastruktur vollständig der Beschreibung entspricht, welche M. Heidenhain für die Stäbchenstruktur des Epithels der gewundenen Nierenkanälchen der Maus gegeben hat. Ebenso wie wir in unserem Falle, hat auch M. Heidenhain feinste Fäserchen beobachtet, welche eine lamelläre Anordnung zeigten und mit ihrem distalen Ende direkt an der Zellbasis begannen; hierbei sind seiner Beschreibung zufolge „dickere Stäbe wahrscheinlich immer Bündel von feineren Plasmafasern“. Der Autor benutzte, wie auch ich, stark essigsäurehaltige Fixierungsmittel und dies ermöglichte, dank der Auflösung der Chondriokonten, eine isolierte Darstellung der fibrillären Protoplasmastruktur. Es ist bemerkenswert, dass man trotz dessen an der Zeichnung von M. Heidenhain (Fig. 626, Plasma und Zelle II) deutlich die chondriomfreie basale Zone des Zellkörpers an einer lichterem Färbung erkennen kann.

Vor Abschluss meines Aufsatzes möchte ich noch wenige Worte über einige andere Strukturdetails der Nierenzellen des Frosches beifügen. Fast an allen meinen in Zenker-Formol fixierten Präparaten gelang es mir, gut gefärbte Zentralkörperchen

¹⁾ Vergl. die interfilare Lagerung der Chondriosomen in den quergestreiften und glatten Muskelfasern, in den Achsenzylinderfortsätzen der Nervenzellen, in den Leukozyten nach Meves etc. Die Bezeichnung „Filar-masse“ wurde etwa von 1890 an nach dem Vorgange von M. Heidenhain fast überall auf die Summe der primären Plasmafilamente angewendet, während Meves neuerdings den Nachweis geführt hat, dass Flemming ursprünglich (1882) damit die fadenförmigen Chondriosomen meinte.

in den Epithelzellen des IV. Abschnittes der Harnkanälchen zu beobachten. Diese Gebilde erschienen grösstenteils in Gestalt von Diplosomen und nahmen stets eine sehr oberflächliche Lage unmittelbar unter der Membrana tectoria ein, wie es zuerst von Zimmermann (später von M. Heidenhain, Meves u. a.) beschrieben worden ist. In manchen Fällen gelang es mir sogar, die ebenfalls von Zimmermann bei Säugetieren und von Meves¹⁾ bei Salamandra beschriebene Zentralgeissel zu Gesicht zu bekommen; dieselbe nahm sich wie ein kurzes Härchen aus, welches von dem Zentralkörper ausging. Angesichts dieses Befundes hielt ich mich für berechtigt, das soeben genannte Gebilde in das von mir entworfene Schema einer Zelle des IV. Abschnittes mit aufzunehmen (Fig. 5). Die nämlichen Gebilde traf ich oft in den Epithelzellen des V. Abschnittes der Harnkanälchen an und wie im ersteren Falle war auch hier die Zentralgeissel relativ sehr kurz und unterschied sich dadurch von den langen Geisseln, die Meves bei Salamandra beschrieben hat.

Vorliegende Arbeit ist im Sommer 1912 in dem mikroskopischen Laboratorium des Anatomischen Institutes zu Tübingen ausgeführt worden. Es bleibt mir noch übrig, Herrn Professor Dr. M. Heidenhain für die freundliche Anleitung bei dieser Arbeit, sowie Herrn Professor Dr. v. Froriep, dem Leiter der Tübinger Anatomischen Anstalt, für die bereitwillige Gewährung aller Mittel meinen besten Dank zu sagen.

Literaturverzeichnis.

- Benda: Die Mitochondria des Nierenepithels. Verh. d. Anat. Ges., 1903.
 Bouin, M. et P.: Ergastoplasme et mitochondries dans les cellules glandulaires sereuses. C. R. d. S. B., 1905.
 Champy, Chr.: A propos des mitochondries des cellules glandulaires et des cellules rénales. C. R. d. S. B., 1909.
 Derselbe: Recherches sur l'absorption intestinal et le rôle des mitochondries dans l'absorption et la sécrétion. Arch. d'Anat. microsc., 1911.
 Duesberg, J.: Les chondriosomes des cellules embryonnaires du poulet et leur rôle dans la genèse des myofibrilles etc. Arch. f. Zellforsch., 1910.
 Gaupp: Anatomie des Frosches. Bd. III, 1904.
 Heidenhain, M.: Plasma und Zelle. II. Lieferung, 1911.
 Hoven, H.: Sur l'histogenèse du système nerveux peripherique chez le poulet et sur le rôle des chondriosomes dans la neurofibrillation. Arch. d. Biol., 1910.

¹⁾ Zitiert nach M. Heidenhain.

- Derselbe: Contribution à l'étude du fonctionnement des cellules glandulaires. Le rôle du chondriome etc. Arch. f. Zellforsch., 1912.
- Levi, G.: J condriosomi nelle cellule secernenti. Anat. Anz., 1912.
- Meves, Fr.: Über Mitochondrien bzw. Chondriokonten in den Zellen junger Embryonen. Anat. Anz., 1907 (a).
- Derselbe: Die Chondriokonten in ihrem Verhältnis zur Filarmasse Flemmings. Anat. Anz., 1907 (b).
- Derselbe: Die Chondriosomen als Träger erblicher Anlagen. Arch. f. mikr. Anat., 1908.
- Derselbe: Zur Einigung zwischen Faden- und Granulalehre des Protoplasma. Arch. f. mikr. Anat., 1910.
- Mislawsky, A. N.: Beiträge zur Morphologie der Drüsenzelle. Anat. Anz., 1911.
- Perroncito: Beiträge zur Biologie der Zelle. Arch. f. mikr. Anat., 1911.
- Policard: Sur les formations mitochondriales du rein des Vertébrés C. R. d. S. B., 1905 (a).
- Derselbe: Sur la striation basale des cellules du canalicule contourné du rein des Mammifères. C. R. d. S. B., 1905 (b).
- Derselbe: Contribution à l'étude du mécanisme de la sécrétion urinaire etc. Arch. d'Anat. micr., 1910.
- Prenant: Les mitochondries et l'ergastoplasme. J. d'Anat. et de Phys., 1910.
- Schultze, O.: Über die Genese der Granula in den Drüsenzellen. Anat. Anz., 1911.
- Zimmermann: Beiträge zur Kenntnis einiger Drüsen und Epithelien. Arch. f. mikr. Anat., 1898.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel XIX.

- Fig. 1. Querschnitt eines Nierenkanälchens (IV. Abschnitt) des Frosches. Chondriom des Nierenepithels. Zeiss Apochr. 3 mm, Apert. 1,40, Komp.-Okul. 18. Fixierung: Sal. Kal. bichr. 3% — 80°, Formalin 20°, Ac. osinic. 2% — 2°. Färbung nach Benda.
- Fig. 2a. Querschnitt eines Nierenkanälchens (IV. Abschnitt) des Frosches. Protoplasmafilamente des Nierenepithels. Vergrößerung wie vorher. Fixierung: Zenkersche Lösung 90°, Formalin 10°. Färbung mit Eisenhämatoxylin nach M. Heidenhain.
- Fig. 2b. Desgleichen, eine andere Stelle bei geringerer Vergrößerung.
- Fig. 3. Tangentialschnitt des Nierenkanälchens (IV. Abschnitt) des Frosches. Chondriokonten im Querschnitt. Vergrößerung wie vorher. Fixierung und Färbung wie bei Fig. 1.
- Fig. 4. Tangentialschnitt eines Nierenkanälchens des Frosches (IV. Abschnitt). Lamelläre Anordnung der Protoplasmafilamente. Vergrößerung wie vorher. Fixierung und Färbung wie bei Fig. 3.
- Fig. 5. Schema des Baues der Nierenepithelzelle aus dem IV. Abschnitt des Nierenkanälchens vom Frosch, um die interfiläre Anordnung der Chondriokonten zu zeigen.

Die Rhombomeren und ihre Nervenbeziehungen.

Von

Dr. L. Gräper

erster Assistent am Anatomischen Institut Breslau.

Hierzu 18 Textfiguren.

Schon Karl Ernst von Baer schreibt in seiner Entwicklungsgeschichte der Tiere, die im Jahre 1828 erschienen ist, über die dritte, später das verlängerte Mark bildende Höhlung des Hirnrohres des Hühnchens am zweiten Tage der Bebrütung: „Diese letzte Zelle hat selbst wieder geschlängelte Wandungen, so dass man in ihr eine gewisse Unbestimmtheit der Bildung, oder eine Neigung, in mehrere Zellen zu zerfallen, erkennt. Besonders ist eine Einschnürung ziemlich deutlich, welche den Raum in eine vordere kürzere rundliche und eine hintere längere engere Abteilung einigermassen trennt.“ Es handelt sich hier zweifellos — wenn wir die Neuromeren des Rautenhirns nach von Kupffer und damit das Kleinhirneuromer als erstes zählen — um die Furche hinter dem zweiten Trigeminusneuromer. Dabei sei gleich erwähnt, dass die erste auffällige Furche am Hinterhirn der Vögel nicht mit der ersten auffälligen Furche am Hinterhirn der Fische übereinstimmt; denn diese liegt zwischen Kleinhirn und Trigeminusneuromer. Am dritten Bebrütungstage beschreibt von Baer noch Einschnürungen am verlängerten Marke, während er sie am vierten Bebrütungstage offenbar nicht mehr hat erkennen können. Statt dessen schreibt er, und darauf müssen wir unten zurückkommen: „So wie schon im Rückenmarke der untere Strang jeder Seite deutlicher ist, so ist die Fortsetzung desselben im Hirn als ein erhabener Strang noch viel kenntlicher. Diesen Strang sieht man, obgleich seitlich immer in die Seitenwand übergehend, deutlich auf dem Boden der vierten Hirnhöhle und der Sylvischen Höhle bis in die dritte Hirnhöhle verlaufen.“

Kurz erwähnen will ich nur, dass schon von Baer Segmente im Vorder- und Mittelhirn beobachtet hat.

Remak (1850), dessen Figuren von Hühnchen des ersten und zweiten Bebrütungstages wohl nicht in allen Punkten unsere

Zustimmung finden können, bildet an einem Hühnchen um die Mitte des dritten Bebrütungstages am verlängerten Mark die Neuromeren ab. Er gibt ihre Zahl auf fünf bis sechs an, hält sie für quadratisch und Urwirbeln — natürlich bei Betrachtung des ganzen Embryo — sehr ähnlich. Er betont, dass sie zwar später mit den Hirnnerven verwachsen, aber ihrer Lage nach weder diesen noch den Schlundbogen entsprechen. Sie verschwinden allmählich von hinten nach vorn und sind am fünften Tage nicht mehr nachzuweisen. Ihre Bedeutung ist Remak unbekannt.

Dem Literaturbericht von Kupffers entnehme ich die Angabe, dass Dursy 1869 in seiner Entwicklungsgeschichte des Kopfes einen Medianschnitt (?) eines Rindsembryo mit sechs faltenartigen Vorsprüngen in der Rautengrube zeichnet, diese auch in der Tafelerklärung kurz erwähnt, aber im Text nicht näher darauf eingeht.

Dohrn kannte 1875 das Vorhandensein von acht bis neun Segmenten in der Gegend des vierten Ventrikels bei Wirbeltierembryonen. Er erwähnt sie aber nur kurz bei einem Knochenfischembryo in seiner Schrift über den Ursprung der Wirbeltiere, um darauf hinzuweisen, dass man es mit einem in Segmente gegliederten Geschöpf zu tun habe, das einem Insektenembryo vergleichbar sei. Die späteren Arbeiten Dohrns beschäftigen sich mehr mit der Metamerie des Kopfes und der peripheren Kopfnerven. Nur aus einer werde ich später einige Punkte herausgreifen.

Mihalkovics beschreibt 1877 fünf bis sechs Falten im Hinter- und Nachhirn des Hühnchens und Kaninchens, die sich gleichzeitig mit der Krümmung des Hirnrohres bilden. Er spricht ihnen keinen segmentalen Wert zu, sondern hält sie für mechanische Bildungen des schnell wachsenden und sich krümmenden Hirnrohres. Bei etwas älteren Embryonen — Kaninchen von 12 mm — sollen sie geschwunden sein.

Erst in der zweiten Hälfte der achtziger Jahre des vorigen Jahrhunderts fand die Faltenbildung am Boden der Rautengrube nähere Beachtung. Ja sie scheint in dieser Zeit sogar zeitweise in den Vordergrund des Interesses gerückt zu sein.

1885 machte C. Rabl eine kurze Mitteilung über eine Beobachtung aus dem Herbst 1884. Hiernach weist das Nachhirn von Hühnchenembryonen von der 50. bis 90. Brütestunde und vielleicht auch später eine unzweifelhafte Segmentierung auf

in Form von Faltenbildung mit denselben Eigentümlichkeiten, die später das Rückenmark erkennen lässt. Die Zahl der Falten gibt er auf sieben bis acht an und hält möglicherweise dafür die Entwicklung der spinalen Hirnnerven für massgebend. Eines von den anfangs gleichen Segmenten erhält später eine sehr ansehnliche Länge. Er glaubt, dass dieser Befund für die Auffassung des Hirnes und die Bestimmung der Zahl der spinalen Hirnnerven von grosser Wichtigkeit sei und erwartet ähnliche Befunde bei allen Cranioten, wofür auch Angaben von Balfour und Rusconi sprächen. Im übrigen Teile des Gehirns leugnet er das Vorhandensein von Segmenten.

Rabl hatte offenbar noch keine Kenntnis von der kurz vorher — 1884 — im *Recueil zoologique Suisse* erschienenen sehr ausführlichen und für die uns hier interessierenden Fragen grundlegenden Arbeit Béranecks: „*Sur le développement des nerfs craniaux chez les lézards*“. Schon die beigegebenen Tafelfiguren machen einen sehr guten Eindruck und man kann an ihnen bereits mehr sehen, als später von Orr bei seinen Charakteristika der Neuromeren angegeben ist. So sind z. B. nicht nur die äusseren und inneren Konturen der Neuromeren angegeben, wie bei späteren Untersuchern überall, sondern es ist eine kernreiche Zone scharf von einer äusseren, kernarmen Zone getrennt gezeichnet. Darauf lege ich besonderen Wert, weil gerade jene kernreiche Zone das Formgebende der Neuromeren ist und durch die äussere kernarme Zone die Segmentierung immer mehr verwischt wird, je massiger jene wird, das heisst, je älter die Embryonen werden. Auch die Aufsichtzeichnung der Rautengrube ist wichtig, weil hier die Neuromeren nicht als reine quere Falten gezeichnet sind. Er beschreibt sie als fünf Paare (2.—6. nach von Kupffer) streng symmetrischer Falten (*replis médullaires*), die sowohl an frischen, wie auch an konservierten Embryonen sichtbar sind. Man kann diese Falten mit ihren scharf bestimmten Charakteristika nicht mit den von Kölliker am Vorderhirn beschriebenen vergleichen, die beim Schluss des Hirnrohres erscheinen und variabel und accidentell sind. Der innere Teil dieser Teilstücke ist von medullären Zellen erfüllt, während der äussere durch eine Lage von Nervenfasern gebildet wird. Béraneck gibt zum ersten Male den Zusammenhang der Hirnnerven mit seinen „*replis méduallaires*“ an: Das erste Paar

hat Beziehung zum Trigemini, das dritte zum Facialis und Akustikus. Vom Glossopharyngeus sagt er nur, dass er etwas unterhalb des Gehörbläschens — soll wohl heissen hinter ihm — entspringt. Eine bestimmte Neuromerenbeziehung gibt er nicht an.

Später dehnte Béraneck seine Untersuchungen auch auf das Hühnchen aus und beschäftigte sich spezieller mit den replis médullaires. Er hat sie beobachtet zwischen 35 und 100 Bebrütungsstunden. Am leichtesten sind sie zwischen der 46. und 70. Bebrütungsstunde zu beobachten. Sie sind schon bald nach dem Schluss des Medullarrohrs mit 35 Stunden deutlich und verschwinden mit 100 Stunden fast vollständig. Der Trigemini steht in Beziehung zum ersten (zweiten nach von Kupffer) und einem Teile des zweiten, der Facialis und Akustikus zum dritten (vierten nach von Kupffer), der Glossopharyngeus zum fünften (sechsten nach von Kupffer). An dem vierten (fünften nach von Kupffer) liegt die Gehörblase an und die Wurzeln des Abducens nehmen ihren Ursprung aus ihm. In bezug auf diese Verhältnisse besteht eine völlige Übereinstimmung zwischen Vögeln und Reptilien. Dieselben Falten hat er bei jungen Triton- und Elasmobranchierembryonen beobachtet. Er unterscheidet „le corps de repli“ und eine „portion radulaire“. Die ersteren sollen mit den nachbarlichen dicht zusammenhängen, die letzteren durch kleine Spalten getrennt sein.

Die ihm unwichtig erscheinende Beschreibung der Stadien von 85 bis 100 Brütstunden wollen wir genauer betrachten: Das Hinterhirn (Rautenhirn) hat sich stark verbreitert und verhältnismässig verkürzt: „Ces modifications dans la forme et les dimensions de la troisième vésicule cérébrale ont pour résultat non seulement de rejeter toujours plus ses replis sur les côtés de la région céphalique, mais encore de les serrer les uns contre les autres et d'amener ainsi entre eux une fusion partielle“. Die Falten sollen sich ventral noch ein wenig erhalten haben, während dorsal jede Spur der Scheidung verschwunden ist. Am Anfang des fünften Tages sieht man nur noch in der Höhe des Zusammenhanges mit den Nerven eine leichte Wellenlinie.

1884 beschrieb von Kupffer an achtzehn bis zwanzig Tage alten Forellenembryonen fünf Paare von Metameren der Medulla oblongata. 1885 beschäftigt er sich als erster mit der sogenannten „primären Metamerie“ des Neuralrohres. Er erwähnt

die bisher bekannte sekundäre und fügt noch einige Beobachtungen am Stichling, an der Forelle und an ca. drei Wochen alten Menschen hinzu. Dann beschreibt er die primäre Metamerie an seinen beiden Eiern von *Salamandra atra*, eine Beobachtung, die viel umstritten und auch von von Kupffer selbst trotz eifrigen Suchens — wie er in seinen späteren Veröffentlichungen schreibt — nicht ein zweites Mal gemacht werden konnte. Die Meinung Frorieps hierüber ist weiter unten angeführt. von Kupffer selbst hat über die Beziehungen seiner „primären Metamerie“ zur sekundären Neuromerie seine Ansicht gewechselt. Während er in seiner ersten Veröffentlichung die acht primären Metameren dem Hinter- und Mittelhirn zurechnet, lässt er sie später dem Vorder- und Mittelhirn angehören.

Orrs Ausführungen über Eidechsenentwicklung 1887 sind deshalb historisch wichtig, weil er den Namen „Neuromer“ geprägt hat und zwar deshalb, weil ihm die von von Kupffer gewählte Bezeichnung „Medullarfalte“ Verwirrung zu stiften geeignet schien. Orr gibt aber auch zum ersten Male bestimmte histologische Charakteristika der Neuromeren: Jedes Neuromer ist von dem anstossenden durch eine äussere, dorsoventrale Einschnürung und einen entsprechenden inneren dorsoventralen Grat geschieden. Es stellt einen schmalen Ausschnitt eines Ringes dar, und die länglichen Zellen sind radiär zur inneren, bogenförmigen Oberfläche des Neuromers angeordnet. Die Kerne stehen näher der äusseren Oberfläche und nähern sich der inneren Oberfläche nur in der Nähe der Grenzgrate. Die Zellen des einen Neuromeres vermischen sich nicht mit denen des benachbarten, so dass der Anschein einer Septumbildung erweckt wird. Da aber die Segmente des übrigen Hirns diese Charakteristika nicht haben, so mag er sie nicht als „Neuromeren“ gelten lassen. Wir werden weiter unten sehen, dass diese „Charakteristika“ der Neuromeren auch im Rautenhirn nur einem bestimmten Entwicklungsstadium und in diesem wieder nur einer ganz bestimmten Schnittrichtung und Schnitthöhe zukommen. Orr findet im verlängerten Mark fünf solche strenge Neuromeren von gleicher Längenausdehnung. Aus dem vordersten (dem zweiten nach von Kupffer) entspringt der Trigeminus, aus dem zweiten (dritten nach von Kupffer) später ventral der Abducens, aus dem dritten (vierten nach von Kupffer) dorsal Facialis und Akustikus. Dem vierten

(von Kupffers fünften) liegt die Gehörblase an, also, meint er, gehöre ursprünglich der Akustikus ihm an. Dem fünften (von Kupffers sechsten) entspringt dorsal der Glossopharyngeus. Nach hinten von diesem Neuromer liegt noch eine ähnliche, nach hinten gegen das Rückenmark aber nicht charakteristisch abgegrenzte Ausbuchtung, die er, weil sie dorsal dem Vagus zum Vorsprung dient, auch als Neuromer bezeichnen möchte. Nach vorn vom Trigeminusneuromer beschreibt er eines von der dreifachen Länge der übrigen.

Hoffmann beschreibt 1889 sieben Segmente am Nach- und Hinterhirn von Reptilienembryonen. Es entspringen aus dem zweiten der Trigeminus, aus dem dritten — scheinbar bei allen Wirbeltieren — kein Nerv, aus dem vierten der Acusticofacialis, dem fünften liegt die Ohrblase an, aus dem sechsten entspringt der Glossopharyngeus und aus dem siebenten der Accessorio-vagus.

1889 sah Platt bei Lachsembryonen fünf Neuromeren. Mit dem vordersten hing der Trigeminus, mit dem dritten das Ganglion des Facialis und Akustikus zusammen, während der Glossopharyngeus dicht hinter dem Gehörbläschen herauskam. Das dritte Neuromer (vierte nach von Kupffer) soll schmaler sein als die Nachbarn. Sie beobachtete beim jungen Hühnchen, dass der Trigeminus nicht aus der Konkavität eines Neuromers, sondern aus der Konkavität zwischen zwei Neuromeren — des zweiten und dritten nach von Kupffer — entspringt. Sie glaubt also, dass er nicht von einem Neuromer, sondern von einem inneren Medullargrat („medullary ridge“) entspringt. Sie nimmt solche Ursprünge daher auch für Facialis, Akustikus und Glossopharyngeus an und zeichnet entsprechend auch die Ursprünge der Nerven aus den Neuromerenzwischenräumen. (Ähnlich auch die Spinalnerven.)

1889 soll Prenant fünf Neuromeren im Hinterhirn des Schweines beschrieben haben. Die Arbeit war jedoch an der in der Literatur angegebenen Stelle nicht zu finden.

In der XV. Studie 1890 sagt Dohrn, dass das Wurzelgebiet des Abducens sehr bereit ist, etwa drei bis vier Spinalnerven entsprechend. Die Augenmuskelnerven entstehen bei Selachiern später als die anderen Hirnnerven. Dohrn hält es nicht für unmöglich, dass Vorder- und Seitenhornnerven dasselbe seien.

1891 untersuchte Mc. Clure, nachdem er im Jahre 1889 eine kurze Mitteilung im Zoologischen Anzeiger gemacht hatte, die Neuromeren an *Amblystoma*, *Anolis* und Hühnchen. Wenn auch seine Präparate nach den Abbildungen technisch nicht sehr vollkommen gewesen zu sein scheinen, so ist doch die Zusammenstellung der Vertreter dreier verschiedener Tierklassen interessant. Nach Mc. Clure fehlt bei *Amblystoma* das dritte Neuomer, das er Abducensneuomer nennt, obwohl er den Abducens nicht mit einem bestimmten Neuomer in Verbindung zu bringen vermag und nur sagt, dass er seinen Ursprung zwischen Trigemini und Facialis haben müsse. Trigemini- und Vagusneuomer hält er für länger als die übrigen. Er glaubt, dass das erste und dritte Neuomer — Zählung nach von Kupffer — früher mit sensiblen Nerven zusammengehangen habe. Der Abducens sei vielleicht ein ventraler motorischer Nerv zum Facialis oder Akustikus, und letzterer sei ursprünglich wohl mit dem auf das Facialisneuomer folgenden verbunden gewesen, weshalb er dieses auch als Akustikusneuomer bezeichnet. Ausserdem versucht er zu zeigen, dass die von Orr für die Nachhirnneuromeren angegebenen Charakteristika auch für die Neuromeren des Rückenmarkes gelten, die intersomitisch seien.

Waters findet 1891 beim Kabeljau sechs, bei *Amblystoma* fünf Hinterhirnneuromeren, wie Mc. Clure. Nur glaubt er mit grösserer Bestimmtheit sagen zu können, dass der Abducens aus dem zweiten Neuomer — drittes nach von Kupffer — entspringt. Diese kurze Mitteilung scheint auf nicht sehr exakten Untersuchungen zu beruhen.

Zimmermann gab auf der Anatomenversammlung in München 1891 eine sehr beachtenswerte Tabelle über die Zusammenhänge der Hirnnerven mit den Neuromeren, von der ich den uns interessierenden Teil wiedergebe unter Beifügung der von Kupfferschen Zählweise. (Kleinhirnneuomer eins, Trigemini neuomer zwei usw.)

Er erwähnt, dass sich die Trigeminiplatte in ihrer ersten Entwicklungsstufe fast über den ganzen primären dritten Hirnröhrenabschnitt erstreckt, sich jedoch allmählich verschmälert, so dass sich sehr bald der Trigemini nur auf das achte Encephalomer (zweites nach von Kupffer) beschränkt. Sekundär soll er auch auf das anfangs völlig nervenlose neunte Encephalomer (drittes Neuomer) überwandern (Mustellus). Eigentümliche Anschauungen

Neuromerenzahl nach von Kupffer	Encephalome- ren		dorsale Wurzel	laterale Wurzel	ventrale Wurzel
	primäre	sekundäre			
		6	—	—	—
1	3. Hinterhirn	7	—	—	Trochlearis?
2		8	Trigeminus sensibler Teil	Trigeminus motorischer Teil	—
3	4	9	—	—	—
4	5	10	Urfacialis (sensibler Teil) und Akustikus	vorhanden (hier sollte wohl stehen: motorischer Facialis)	—
5	6	11	Akustikusganglion (steht in Zusammenhang mit Facialis)	geht durch das innere Knie des Facialis in diesen über	Abducens
6	7	12	Glossopharyngeus (sensibler Teil)	vorhanden	vorhanden, geht hinter dem Glossopharyngeus dorsalwärts
7	8	13	Urvagus (sensibler Teil)	steckt grösstenteils im Accessorius	vorhanden, geht hinter dem Vagus dorsalwärts

} Mensch und Kaninchen

entwickelt er über das elfte Encephalomer (fünftes Neuromer nach von Kupffer). Er meint, dass das Akustikusganglion von dem Gehörbläschen an der Vereinigung mit demselben gehindert werde und sich deshalb dem Facialis anschliesse. Er betont mit Bestimmtheit den Zusammenhang des Abducens mit diesem Neuromer, der sich erst später rostralwärts verschöbe. Er erwähnt auch — und dieselbe Beobachtung habe ich ohne Kenntnis seiner Schrift gemacht — dass sich bei Säugern regelmässig Arterienäste zwischen den Encephalomeren finden.

Auf der Anatomenversammlung des Jahres 1892 wurde viel von der Metamerie des Wirbeltierkopfes gesprochen und dabei

mancherlei über die segmentale Bedeutung der Hirnnerven gesagt. Ich möchte aber alle die Vorträge und Arbeiten, auch aus anderen Jahren, die sich mit der Metamerie des Kopfes im allgemeinen befassen, von dieser Literaturbesprechung ausschliessen, hauptsächlich, weil in ihnen der Neuromeren wenig oder gar nicht gedacht wird und meist nur die peripheren Äste der Hirnnerven eingehender gewürdigt sind, andererseits aber, weil es mir scheint, als wenn man den Neuromeren, soweit man sie beachtet, keinen morphologischen Wert beigemessen und sie dem aufgestellten Schema der Kopfneuromeren einzuzwängen versucht hat. Deshalb bestrebe ich mich, in der vorliegenden Abhandlung ein reines Tatsachenmaterial zu geben, ohne mich auf theoretische Reflexionen über die Metamerie des Wirbeltierkopfes einzulassen. Nur ein Punkt aus Hatscheks Vortrag 1892 sei erwähnt: „Der Abducens wird als die erste ventrale Wurzel gelten, die zum Facialis gehört. Diese durch Gegenbaur begründete Auffassung gewinnt hier noch neue Stützen.“

In derselben Versammlung sprach Froriep: „Zur Frage der sogenannten Neuomerie“. Er führt an, dass er im vorausgegangenen Jahre Maulwurfembryonen demonstriert habe, die eine solche Neuomerie zeigten. Nach genauerem Studium sei er jedoch von seiner Ansicht, dass darin ein Rest primitiver Gliederung des Hirnrohres zum Ausdruck käme, zurückgekommen, weil diese Einschnürungen erst verhältnismässig spät aufträten, um bald wieder zu verschwinden. Über die Hinterhirnfalten sagt er nicht viel Neues: es bestehen sieben. Die erste entspricht dem Kleinhirn, an der zweiten entspringt der Trigeminus und greift auf die dritte über. An der vierten entspringt der Akustiko-Facialis. Der fünften liegt die Gehörblase an; zur sechsten steht der Glossopharyngeus, zur siebenten und letzten der Vagus in Beziehung. Diese Beziehungen erscheinen ihm aber nicht so innig, dass Nerv und Neuomer ein einheitliches Organ bilden müssten; denn die Nerven, besonders Trigeminus und Facialis, griffen über das Gebiet der ihnen zugehörigen Falten hinaus und seien in ihren Beziehungen zu ihnen durchaus nicht so konstant, wie es zu erwarten wäre, wenn hier primäre Glieder des Nervensystems vorlägen. Es mache vielmehr den Eindruck, als ob das Vorhandensein und die Lage der Nerven allerdings die Lage der Falten bestimme, als ob aber das Zustandekommen der Falten

selbst eine passiv-mechanische Erscheinung wäre, verursacht durch das rasche Längenwachstum im engen Raume. Deshalb hält er die rasch vorübergehenden Segmentierungen für morphogenetisch unwesentliche Erscheinungen.

Dieser Vermutung möchte ich auf das Bestimmteste entgegenzutreten. Die Neuromeren sind früher da, als die Nerven, auch dürfte sonst dort, wo kein Nerv vorhanden ist, vor allem beim dritten Neuromer, niemals ein typisches Neuromer gebildet werden. Auch spricht ganz besonders dagegen, dass eine sicher rein mechanisch entstandene Falte, wie die tiefe dorsal einschneidende Brückenkrümmungsfalte, nach meinen unten angeführten Beobachtungen nicht mit einer Neuromerenfalte zusammenfällt, sondern mehrere derselben kreuzt. Immerhin ist in Frobie's Vortrag deshalb ein grosser Fortschritt zu sehen, weil er nicht nur den äusserlichen Zusammenhang der Nerven mit den Neuromeren registriert und diesen für nebensächlich hält, sondern vielmehr nach dem inneren Zusammenhange fragt, ohne freilich eine befriedigende Antwort geben zu können. Im zweiten Teil seines Vortrages sucht er die von von Kupffer als „primäre Neuromerie“ bei *Salamandra atra* beschriebene Erscheinung durch Abdruck der Urwirbelreihe auf die Medullarplatte zu erklären.

Die Arbeiten von Locy kommen für uns nur wenig in Betracht. Er versucht die sekundäre Neuromerie, die wenigstens für das Rautenhirn allgemein anerkannt ist, auf eine primäre Metamerie zurückzuführen. Es mögen zu diesen Untersuchungen wohl die Beobachtungen von Kupffer's den Anlass gegeben haben. Er zeichnet junge Embryonen von *Acanthias*, *Amblystoma* und auch schon ein Hühnchen, bei denen an den eben abgehobenen Medullarwülsten eine durchgehende, regelmässige Segmentierung besonders des Randes der Wülste zu sehen ist.

Neal hat die Resultate von Locy an *Acanthias* und *Torpedo*, und zwar an einer sehr grossen Zahl von Embryonen, nachgeprüft und ändert 1897 seine anfangs Locy günstige Ansicht in das Gegenteil, weil er die beschriebenen Einschnürungen nie symmetrisch hat wahrnehmen können, ähnlich wie Eycleshymer bei *Amblystoma*, der sie für Kunstprodukte hält. Er kennt sieben Encephalomeren.

Die Verschiedenheit des Ursprunges des Abducens, bei Hühnchen, Schwein und *Necturus* aus dem Encephalomer 6, bei

Acanthias aus Encephalomer 7 lässt ihn glauben, dass kein genetischer Unterschied zwischen der präotischen und postotischen Region bestehe. Seine 1896 gegebene Tabelle über die Beziehung der Hirnnerven zu den Encephalomeren, Kiemenbögen und Kiemenspalten korrigiert und erweitert er im folgenden Jahre. Seine Tabellen haben mir als Grundlage zu der weiter unten gebrachten Tabelle über die Nervenbeziehungen zu den Neuromeren gedient. Bemerkenswert ist, dass er den Trigemini als den dorsalen Nerv dreier Neuromeren betrachtet. Er hat die Frage nach den Neuromeren und ihren Beziehungen — von denen wir hier nur die Nervenbeziehungen wiedergeben — in recht gründlicher Weise bei Acanthias behandelt und besonders die Segmentierung der Ganglienleiste in jungen Stadien studiert. Nicht recht begründet erscheint mir der ausserordentliche Umfang seines Encephalomers 3, zu dem das Trigemini-neuromer und das Kleinhirnnneuromer gerechnet wird, obgleich Neal eine scharfe Grenze zwischen diesen beiden zeichnet, aber keine scharfe Grenze zwischen seinen Encephalomeren 2 und 3 angibt. Besonders Wert legt er auf seine Beobachtung, dass der Glossopharyngeus primär nur mit der Encephalomere 6 — Neuromer 5 nach von Kupffer — zusammenhängt und sich dann später durch das Dazwischendrängen des Gehörbläschens nach Encephalomere 7 — Neuromer 6 nach von Kupffer — verschiebt. Er bestreitet jedes andere spätere Auswachsen von Nerven — wie es z. B. Hoffmann behauptet. Neals Beobachtungen dürfen jedoch für die Nervenbeziehungen zu den Neuromeren deshalb nicht allzu hoch angeschlagen werden, weil er in erster Linie die Entwicklung der Ganglienleiste verfolgt hat, deren Segmentierung nur undeutlich ist und in der — wie er selbst weiss — Zellen mit nicht nervöser Funktion reichlich enthalten sind.

Hill beschreibt 1900 in einer Doktordissertation die primäre Neuromerie bei Lachs und Hühnchen und zeichnet kontinuierliche Übergänge von der primären zur sekundären Neuromerie. Seine überraschenden und bisher wohl von niemand bestätigten Zeichnungen sind in die neueren Lehr- und Handbücher übergegangen. Während ich nie Bilder mit bilateral symmetrischer Segmentation in jungen Stadien gesehen habe, wie sie Hill vom Hühnchen zur Zeit des Auftretens des ersten Urwirbels zeichnet, ist an seinen

Zeichnungen des Hühnchens von der 36. bis 43. Bebrütungsstunde eine Eigentümlichkeit des Facialisneuromers dargestellt, die ich auch an den Säugetierembryonen gefunden habe, die Hill aber im Text nirgends erwähnt. Das vierte Neuomer — bei Hill das neunte — ist nämlich ventral sehr breit, so dass die beiden nachbarlichen wie Keile an ihm sitzen. Über die Nervenbeziehungen sagt Hill nichts Neues. Die Segmentalnatur des Kopfes hält er für erwiesen und allgemein anerkannt.

In einem 1903 gehaltenen Vortrage zeigte Neumayer ein Modell eines 4 mm langen Schafembryos mit 6 Neuomeren im Nachhirn. Auf seiner Abbildung sieht man deutlich, dass schon in diesem Stadium die Furchen zwischen den Neuomeren nicht parallel sind, sondern dorsalwärts konvergieren. Seine theoretischen Ausführungen, die sich zum grossen Teil auf die vorderen Teile des Hirns erstrecken, kommen für die gegenwärtige Abhandlung nicht in Betracht.

Lewis beschreibt 1903 bei einem 12 mm langen Schweineembryo drei Neuomeren und erwähnt, dass er bei einem 9 mm langen Schweineembryo fünf sehr distinkte gesehen habe.

1905 beschreibt Gage einen menschlichen Embryo, der mir aber nach den zahlreichen, tiefen Falten, die das Modell am Hirnröhr zeigt, keineswegs einwandfrei frisch gewesen zu sein scheint. Sie beschreibt neun Oblongata-Falten, von denen die beiden letzten nur den dorsalen Teil einnehmen. Die Nervenbeziehungen sind wie üblich angegeben: die zweite hängt mit dem Trigeminus, die dritte mit keiner Struktur, die vierte mit Facialis und Akustikus zusammen, die fünfte soll bei Amblystoma rudimentär sein, die sechste gibt den Glossopharyngeus, die siebente den Vagus ab.

In Kollmanns Handatlas der Entwicklungsgeschichte 1907 sind die Neuomeren des Rautenhirns in mehreren Figuren dargestellt, besonders in Fig. 633 von einer Eidechse und in Fig. 634 von einem Schaf von vier Millimeter Länge. Kollmann zeichnet bei einem 10,2 mm langen Menschenembryo einen die Grund- und Flügelplatte schneidenden Sulcus limitans, in dessen unmittelbarer Nähe der Ursprungskern des Vago-Accessorius liegen soll, während der Hypoglossus ventral austritt.

Tandler und Kantor zählen 1907 beim Gecko sechs interneuomerale Furchen und sieben Neuomeren, von denen das

letzte nach hinten nicht abgrenzbar ist. Am zweiten entspringt der Trigeminus, am vierten der Akustiko-Facialis, am sechsten der Glossopharyngeus und am siebenten der Vagus. In einem etwas späteren Stadium sind die Neuromeren grösstenteils verschwunden.

In seiner Beschreibung eines menschlichen Embryo von zirka 7 mm grösster Länge erwähnt Elze 1907 sechs Neuromeren des Rautenhirns und eine Grube dahinter, die vielleicht als siebentes aufgefasst werden müsse. Über die Nervenbeziehungen aussert er sich nicht, weil bei seiner Färbung die Fasern im Hirnrohr nicht verfolgt werden konnten.

1907 untersuchte Meek die Neuromeren und ihre Nervenbeziehung bei der Möwe. Die Resultate sind im wesentlichen die gleichen, die er 1909 bei *Acanthias* wiederum fand: er beschreibt drei Prosomeren, zwei Mesomeren und dreizehn (!) Rhombomeren. Mit der zweiten Rhombomere hängt der Trigeminus, mit der vierten der Akustikus und Facialis, mit der fünften und sechsten der Abducens, mit der siebenten der Glossopharyngeus, mit der achten der Vagus zusammen. Letztere beiden sollen durch die sich über zwei Segmente erstreckende Gehörblase um ein Segment nach hinten verschoben sein. Schon 1907 bringt er eine Tabelle der „wahrscheinlichen“ Nervenbeziehungen, die deswegen bemerkenswert ist, weil er danach für den Trigeminus und Facialis eine Polymerie anzunehmen scheint, die meinen tatsächlichen Befunden ähnelt. Ich habe Möwe nicht auf Neuromeren untersucht, aber die oben angegebenen Nervenbeziehungen erscheinen mir nach meinen Untersuchungen an Huhn und Säugetieren nicht sehr wahrscheinlich.

Filatoff (1908) schlägt sich bei Betrachtung der morphologischen Bedeutung der Neuromeren weder auf die Seite von Froriep und Mihalkovics, die sie als mechanische, morphologisch unwichtige Bildungen ansehen, noch auf die Seite der übrigen Forscher — besonders Neal und Koltzoff — die in der Faltenbildung des Gehirns einen Hinweis auf die ursprüngliche Metamerie desselben zu erblicken suchen, sondern erwägt die „Möglichkeit, in denselben einen Embryonalprozess zu erblicken, welchem, ohne dass er eine Nachwirkung eines vormals vorhandenen Zustandes repräsentiert, doch auch eine morphologische Bedeutung zukommen kann, wenn er das Auftreten irgendwelcher anatomischer Merkmale hervorruft“.

Eigenartig erscheint in seiner Arbeit, dass er Muskel und Nerv bei Emys immer aus einer gemeinsamen mesodermalen Anlage entstehen lässt.

Filatoff glaubt die Entstehung der Falten im Nervensystem und die der Falten, welche der Somitenbildung vorangehen, auf die gleichen mechanischen Kräfte zurückführen zu müssen (rasche Zellvermehrung). Dass diese Falten sich nun im Mesoderm zu Somiten umwandeln, im Nervensystem aber verschwinden, versucht er dadurch zu erklären, dass beim Mesoderm die Raumbeschränkung weiterhin zunimmt, das Nervenrohr aber durch seine Achsenkrümmung Raum gewinnt. Als Beweis für diese Theorie führt er einen abnormen Embryo an, der im ganzen verkürzt, und bei dem die Krümmung des Hirnrohres gering ist, und dessen Nervensystem abgeschlossene Hohlräume gebildet hat, die er den Somiten vergleicht. Ich möchte diesen Embryo als Beweis nicht anerkennen, da abgestorbene Embryonen oft sehr starke Vertiefungen von Falten im Nervensystem — Vorder-, Mittel- und Hinterhirn — zeigen, ohne sonst falsche äussere Proportionen zu haben. Vielleicht handelt es sich auch hier um einen solchen abgestorbenen Embryo.

Die besten Angaben über die hier zu besprechenden Verhältnisse finden wir in der Arbeit von Streeter 1911 über die Entwicklung des Nervensystems in Keibel und Malls Handbuch der Entwicklungsgeschichte. Dort ist die Ansicht der Rautengrube eines einen Monat alten menschlichen Embryo nach einem Modell gegeben. Die Neuromeren sind sehr scharf ausgeprägt. Im Schema ist ferner die Lage der Kerne zu den Gruben angegeben: zwischen a und b — zwei und drei nach von Kupffer — Trigeminus und zwar seitlich, unter c — vier — Facialis, unter d — fünf — Abducens, unter e — sechs — Glossopharyngeus, unter f — sieben — Vagus. Die Neuroblastennester sollen in der Mantelschicht liegen. In Wort und Bild wird auch die Lage der Kerne beschrieben und zwar bei menschlichen Embryonen von ca. 10 mm grösster Länge. Die motorischen Nerven werden in zwei Gruppen geteilt: 1. somatisch-motorische (alias Vorderhornnerven) Okulomotorius, Trochlearis, Abducens, Hypoglossus, 2. visceral-motorische (alias Seitenhornnerven). Trigeminus, Facialis, Glossopharyngeus, Vagus, Accessorius. Erstere sollen ihre Kerne nahe der Mittellinie in dem ventralen Teil der Mantelschicht haben, und letztere in einer Neuroblastensäule entspringen,

die dorsolateral von jenen in der Mantelschicht liegt. Ich werde weiter unten zeigen, dass dies unzutreffend ist, zum mindesten aber kein primäres Verhalten darstellt. Auch kann ich es nicht für berechtigt halten, dem Trigeminus eine Sonderstellung unter den „visceral-motorischen“ Nerven deswegen anzuweisen, weil sein Kern mehr lateral unmittelbar neben den eintretenden sensorischen Fasern läge. Dass man einen solchen Kern auch beim Facialis (His jun.) findet, ist nicht erwähnt und nur ein kurzer Hinweis auf die beim Erwachsenen zu findenden dorsalen Kerne des Glossopharyngeus und Vagus gegeben.

Unter Zugrundelegung einer von Neal aufgestellten Tabelle gebe ich im folgenden eine Übersicht über die von den einzelnen Autoren angegebene Neuromerenzahl:

			V. H.	M. H.	H. H.	im ganzen
Säugetiere.						
1842	Bischoff	Hund	—	—	6	
1869	Dursy	Rind	—	3 ?	6	
1877	Mihalkovics	Kaninchen	—	—	5—6	
1886	von Kupffer	Schaf, Maus, Mensch	—	—	5	
1889	Prenant	Schwein	—	—	5	
1891	Zimmermann	Kaninchen	2	3	8	13
1892	Froriep	Maulwurf	2	3	7	12
1895	Broman	Mensch	—	—	7	
1903	Lewis	Schwein 9 mm	—	—	5	
1903	"	Schwein 12 mm	—	—	3	
1903	Neumayer	Schaf	—	—	6	
1905	Gage	Mensch	—	—	9	
1907	Elze	"	—	—	6	
1907	Kollmann	Schaf	—	—	5 (7)	
1911	Streeter	Mensch	—	—	6	
Vögel.						
1855	Remak	Huhn	—	—	5—6	
1877	Mihalkovics	"	—	—	5—6	
1885	Rabl	"	—	—	6—7	
1887	Béraneck	"	2	1	6	9
1889	Platt	"	1	1	6	8
1890	Mc. Clure	"	2	2	6	10
1891	Zimmermann	"	2	3	8	13
1900	Hill	"	3	2	6	11
1907	Meek	Möwe	3	2	13	18

			V. H.	M. H.	H. H.	im ganzen
		Reptilien.				
1884	Béraneck	Eidechse	—	—	5	
1887	Orr	"	2	1	6	9
1885		Eidechse und				
1889	Hoffmann	Ringelnatter	—	—	7	
1890	Mc. Clure	Eidechse	2	2	6	10
1891	Clarke	Alligator	—	—	5	
1892	Herrick	Schlange	—	—	5—7	
1907	Tandler & Kantor	Gecko	—	—	7	
1907	Kollmann	Eidechse	—	—	5 (7)	
		Amphibien.				
1875	Goette	Bombinator	—	—	?	
1886 (93)	von Kupffer	Salamander	5	3	?	8
1890	Mc. Clure	Axolotl	2	2	5	9
1891	Waters	"	3	2	5	10
1892	Froiep	Salamander	—	—	—	4
1892	"	Triton	—	—	—	5
1892	Wiedersheim	Salamandrinen	?	?	?	?
		Fische				
1875	Dohrn	Knochenfische	—	—	8—9	
1884/85	von Kupffer	"	—	3	5	
1887	Scott	Petromyzon	—	3	5	
1889	Platt	Lachs	—	—	5	
1891	Waters	Kabeljau	3	2	6	11
1891	Zimmermann	Acanthias	2	3	8	13
1893	von Kupffer	Stör	5	3	5	13
1884	"	Ammocoetes	—	3	—	
1894	Locy	Squalus	3	2	6	11
1895	"	"	3	2	6 (8)	14—15
1900	Hill	Lachs	3	2	6	11
1909	Meek	Acanthias	3	2	13	18

Gleichfalls unter Zugrundelegung, Korrektur und Erweiterung einer Tabelle von Neal gebe ich eine Übersicht der von den Autoren angegebenen Nervenbeziehungen der Encephalomeren:

Segmentnummern:	Vorder- hirn			Mittel- hirn			Hinterhirn								
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1884	Béraneck	Eidechse													
1887	Béraneck	Huhn	I	II			III	IV	V	VII u. VIII	Gehör- bläschen VI	IX?			
1887	Orr	Eidechse	I	II			III	IV	V	VII u. VIII	Gehör- bläschen	IX	X		
1889	Hoffmann	Eidechse					IV	V	V	VII u. VIII	"	IX	X-XI		
1889	Mc. Clure	Huhn, Eidechse, Axolotl	I				III	IV	V	VII u. VIII	"	IX	X		
1889	Platt	Lachs							V	VII u. VIII	"	IX			
1889	Platt	Huhn							V	VII u. VIII	"	IX			
1891	Waters	Kabeljau	I	II			III	IV	V	VII u. VIII	"	IX			
1891	Waters	Axolotl	I	II			III	IV	V	VII u. VIII	"	IX			
1891	Zimmermann	Kaninchen, Huhn, Acanthias	I				III	IV	IV	VII u. VIII	VI	IX	X	XI	XII
1892	Herrick	Schlange							V	VII u. VIII	Gehör- bläschen VIII	IX	X		
1892	Forriep	Maulwurf							V	VII u. VIII	Gehör- bläschen VIII	IX	X		
1895	Loey	Squalus							V	VII u. VIII	Gehör- bläschen VIII	IX	X		
1895	Bromann	Mensch	I	II	III	IV	IV	IV	V	VII	VII u. VIII	IX	X	XI	XII
1896	Neal	Acanthias { dors. Torpedo { ventr.					Th?	Th?	V	VII	IX	X			
1897	Neal	Acanthias { dors. Huhn, Lachs { ventr.		I			III	oph. prof.	V	VII	IX	X	X		
1900	Hill	Mensch		fehlt			III	III	IV	(VI)	(VI)	VI	X		
1905	Gage								V	VII u. VIII	VII u. VIII	IX	X		
1907	Meek	Möwe { dors. Acanthias { ventr.	I	II			IV	IV	V	VII	VII	VIII	IX	X	
1909	Tandler und Kantor	Gecko					III	III	V	VII u. VIII	VI	IX	X		
1911	Streeter	Mensch							V	VII	VI	IX	X		

Da ich die Nervenbeziehungen der Neuromeren hauptsächlich auf Grund des Faserverlaufes innerhalb des Hirnrohres untersucht habe, macht sich hier auch eine Besprechung der Arbeiten von W. His nötig, der zwar Neuromeren nicht kannte, sich aber wohl als erster und einzig in Frage kommender Untersucher mit der Differenzierung des Hirnrohres befasst hat und Schemata über die Verteilung der Neuroblasten bei Embryonen gegeben hat. Er kennt eine „Gliederung des Medullarrohres in Längszonen“, und eine „Schichtensonderung in den Wandungen des Markrohres“, während er niemals Neuromeren beschreibt.¹⁾ Beim Menschen beschreibt er die Schichtensonderung von der vierten Woche ab, und zwar unterscheidet er zwei kernhaltige Hauptschichten, die Innenplatte oder Matrix und die Mantelschicht, und eine kernfreie Randschicht, den sogenannten Randschleier. Die Innenplatte enthält dicht gedrängte radiär gestellte Kerne und zu innerst Keimzellen; sie ist die Bildungsschicht der nach aussen von ihr folgenden Gewebslagen. Die Mantelschicht ist locker gefügt, und frühzeitig treten in ihr tangential gerichtete Neuroblasten auf. Dass His die Neuromeren nicht beachtet hat, liegt zum Teil vielleicht daran, dass er hauptsächlich Querschnitte untersucht hat. Durch mündliche Überlieferung ist mir bekannt, dass er ähnliche Gebilde wohl gesehen, aber immer für akzidentell und unwichtig, wenn nicht für Kunstprodukte der Fixierung gehalten hat. Zum Teil scheint er mir sogar aus Schrägschnitten der Neuromeren des Rautenhirns die Längsgliederung des Hirnrohres in dieser Gegend abgeleitet zu haben. Er lässt nämlich im Querschnitt die Seitenwände des Hirnrohres bei einem jungen Embryo durch eine innere Längsfurche in eine Grund- und eine Flügelplatte geschieden sein. Man wende mir nicht ein, dass His seine „Grund- und Flügelplatte“ nur für das Rückenmarkrohr angegeben habe. Er hat ihre Existenz unter anderem auf den Anatomenversammlungen 1888 und 1889 wiederholt auch für die Rautengrube in Anspruch genommen. Auch von Baer beschreibt beim Hühnchen einen unteren erhabenen Strang am Hirnrohr, der mit der Hisschen Grundplatte vergleichbar wäre.

Beim Modellieren des Rautenhirns bei einer Anzahl jüngerer Säugetierembryonen fiel mir nun auf, dass eine solche Längs-

¹⁾ Meines Wissens erwähnt His nur einmal kurz ein System schräger Falten 1891.

falte niemals herauskam, während auf den Querschnitten manchmal tatsächlich Ähnliches sichtbar war. Der scheinbare Widerspruch erklärt sich aus folgendem: Die Neuromeren des Rautenhirns verlaufen bei Embryonen dieses Alters nicht rein in der Querrichtung, sondern die ersten etwas schräg von hinten oben aussen nach vorn unten innen, die hinteren von aussen oben vorn nach innen unten hinten, so dass reine Querschnitte die Neuromeren schräg durchschneiden. Durch eine leichte Neigung der Schnittrichtung kann diese Erscheinung noch zunehmen. Noch auffallender wird dies, wenn man anstatt der inneren oder äusseren Oberfläche des Hirnrohres die Oberfläche der kernreichen Zone — der Innenplatte nach His — modelliert, wie ich das mehrfach getan habe. Als Textfig. 1 gebe ich eine Skizze von dem Modell der Innenplatte eines Schafembryo von etwa 9 mm Länge im Bereiche der Rautengrube von der linken Seite gesehen. Die Lage der als Textfigur wiedergegebenen Schnitte ist darin angedeutet. Textfig. 2 stellt eine Skizze des an der bezeichneten Stelle hindurchgelegten Schnittes dar, der zwischen einer sehr schönen „Grund- und Flügelplatte“ eine scharfe Grenze zeigt, die aber lediglich ein schräggesechnittenes sogenanntes Neuromerenseptum ist, und zwar zwischen Neuromer 1 und 2. Dem Septum entspricht — und zwar überall — an der Innenfläche des Hirnrohres der interneuromerale Grat. Nach oben von diesem Grat liegt das Kleinhirneuromer (N 1), nach unten das Trigemimusneuromer (N 2). Geht man in der Serie nach hinten, so rückt das Septum und mit ihm der interneuromerale Grat immer mehr dorsalwärts. Der Anschnitt von Neuromer 1 verkleinert sich, der von Neuromer 2 vergrössert sich immer mehr, und plötzlich — noch bevor ersteres verschwunden ist — tritt ventral ein neues Septum und mit ihm ein neues Neuromer (N 3) auf, so dass man in dem in Textfig. 3 skizzierten Schnitte sogar drei Neuromeren angeschnitten sieht. Das Septum zwischen N 1 und N 2 verflacht sich dorsalwärts mehr und mehr, so dass es bald nicht mehr wahrnehmbar ist, und in Textfig. 4 ist nur noch Neuromer 2 und 3 zu sehen, die scheinbar wieder eine deutliche Grund- und Flügelplatte darstellen. Beim weiteren Verfolgen der Serie nach rückwärts rückt wieder das Septum dorsalwärts und Neuromer 4 vergrössert sich immer mehr auf Kosten von N 3, und es folgen eine grössere Anzahl Schnitte, die, wie der in Textfig. 5 abgebildete, nur durch

ein Neuromer (N 4) gehen. Hier ist von Grund- und Flügelplatte nichts zu sehen, und am Modell sehe ich, dass alle Neuromeren mit Ausnahme des fünften ein ganz ähnliches Schnittbild zeigen würden, wenn man jedes in der Richtung der es

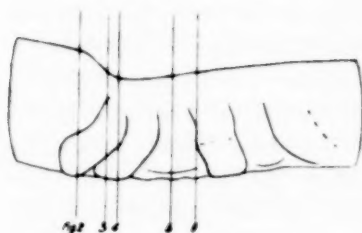


Fig. 1.

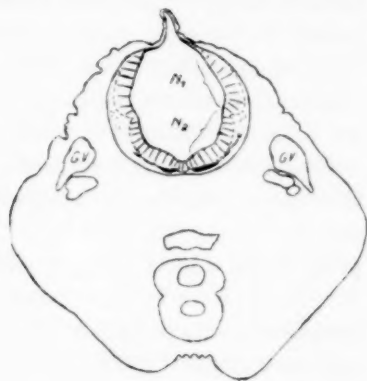


Fig. 2.

begrenzenden Neuromerensepten schneiden würde. Nur liegt beim Facialisneuromer (N 4) die schärfste Ausbuchtung weiter ventral als bei N 3, und bei diesem wieder weiter ventral als beim Trigeminusneuromer (N 2) und beim Kleinhirneuromer noch

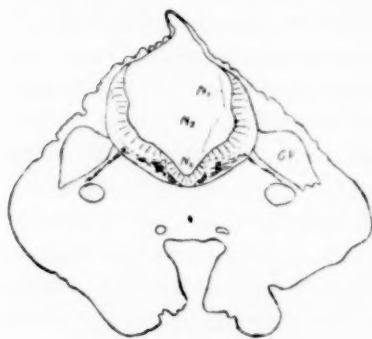


Fig. 3.

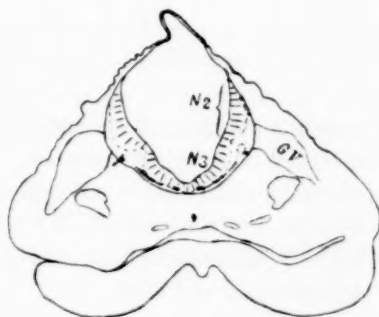


Fig. 4.

weiter dorsal. Neuromer 5 ist das einzige, an dem sich eine deutliche horizontale Falte an der Innenplatte und an der inneren Oberfläche des Hirnrohres geltend macht. Sie entspricht dem hier schon stark entwickelten Tractus solitarius, der an der äusseren

Oberfläche keine Falte aufwirft, vielleicht weil ihn hier die dem Neuromer 5 dicht anliegende Gehörblase daran hindert.

Am Leipziger Institut hatte ich die günstige Gelegenheit, die Originalschnitte zu den Zeichnungen der Querschnitte durch den Embryo a zu sehen, an dem jene Grund- und Flügelplatte des Hirnrohres zuerst beschrieben sind. Es handelt sich hier um ziemlich dicke Scheiben durch die Nachhirngegend eines Menschenembryo von 9 mm (?) Länge. Gefärbt ist nur die äussere und innere Oberfläche des Hirnrohres. Die Konturen der vorderen Schnittfläche weichen an jedem Schnitt stark von denen der hinteren Schnittfläche ab und mit dem binokularen Mikroskop sieht man deutlich die Neuromerenfalten schräg durch die Schnittscheibe ziehen. Die Zeichnungen von His stellen eine Summation der beiden Schnittflächen dar.

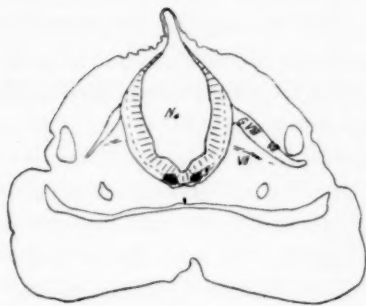


Fig. 5.

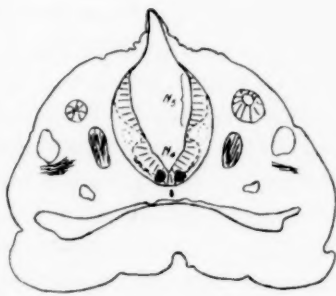


Fig. 6.

Ob His das Wesen seines Fehlers später eingesehen hat, ist mir nicht recht klar geworden. Jedenfalls aber scheint ihn seine eigene Einteilung später nicht mehr befriedigt zu haben; denn er schreibt in der in seinem Todesjahr 1904 erschienenen grossen Schrift: „Die Seitenwandungen zerfallen in eine ventrale und dorsale Hälfte. Für das Rückenmark reichen diese Bezeichnungen aus, beim Gehirn dagegen treten Verschiebungen ein, welche es wünschbar machen, Ausdrücke zu besitzen, die unabhängig von den Beziehungen zu Rücken und Bauch sind. Ich habe seiner Zeit die Ausdrücke Grundplatte und Flügelplatte vorgeschlagen, die mir selber indessen nur ein Notbehelf gewesen sind, und die ich gern gegen bessere vertauschen werde. Vielleicht erweisen sich die Bezeichnungen eines epencephalen und hypence-

phalen Bezirkes als brauchbar.“ Ob die Einteilung in Grund- und Flügelplatte auch für spätere Stadien und im Rückenmark keine Geltung hat, vermag ich nicht zu entscheiden, da ich keine speziellen Untersuchungen darüber gemacht habe. Ich möchte aber die Beobachtung von Bolk registrieren, der eine Segmentation in der dorsalen Hälfte des Rückenmarkes beschreibt, die His nicht kannte. Vielleicht kann auch hier diese Quersegmentierung der Anlass zu der Hisschen Längseinteilung gewesen sein. Schliesslich besteht ja auch die Möglichkeit, dass bei menschlichen Embryonen in einem bestimmten kurzdauernden Stadium auch eine schnell verschwindende Längsteilung in Hirn und Rückenmarksröhr sichtbar ist, die bei den Tieren nicht deutlich ist. Durch Zufall bin ich jetzt in den Besitz eines menschlichen Embryo von 9 mm Länge gekommen, von dem ich Aufschluss über diese Verhältnisse zu erhalten hoffe. Die gänzliche Nichtbeachtung der Neuromeren durch W. His, obgleich die vordersten z. B. in seiner Fig. 35, S. 57, 1904 deutlich erkennbar sind, muss um so mehr wundernehmen, als er ein so hervorragendes Formvorstellungsvermögen besass, wie ja aus seinen Rekonstruktionen hervorgeht. Sein Gehirnprofil mit eingezeichneten Neuroblasten ist für uns sehr interessant, wenn ich auch nach den Silberpräparaten vieles anders zeichnen möchte. Im folgenden sei kurz herausgegriffen, was His bei einem menschlichen Embryo von vier Wochen über die Kerne und den Austritt der Hirnnerven im Rhombencephalon sagt: der Hypoglossuskern ist gross, mit Zellen durchsetzt, die ihre Fasern in die vordere Kommissur senden. Dorsalwärts liegen Neuroblasten der Accessoriusreihe. Kommt man von hinten her näher an die Gehörblase, so sieht man nach unten sich zuspitzende Neuroblasten des Facialis. Der Facialiskern reicht bis über den rostralen Rand der Gehörblase hinaus. Dann folgt dicht unter der Oberfläche der ziemlich kompakte Abducenskern und jenseits davon das breite Bündel des austretenden Nervus facialis. Auch die Strecke bis zum motorischen Hauptkern des Trigeminus enthält Neuroblasten, deren Zugehörigkeit His nicht bestimmen konnte. Der motorische Hauptkern des Trigeminus ist ein Seitenhornkern, der dicht an der Oberfläche liegt. Die Zellen der Vorderhornzone entsenden ihre Fasern medianwärts. Viele derselben sind schräg angeschnitten und daher nicht weiter verfolgbar. Die Strecke zwischen Trigeminusaustritt und dem Beginn

des Isthmus bot His keine eindeutigen Bilder, wohl deshalb, weil seine Serie hier wegen der Krümmung des Hirnes keine reinen Querschnitte ergab und wahrscheinlich auch die Radix mesencephalica das Bild komplizierte. Wichtig ist mir aber, dass His in dieser Gegend Neuroblasten mit weit nach hinten gerichteten Fortsätzen zeichnet. Er äussert auch, dass ein Teil der Zellen wahrscheinlich der absteigenden Trigeminiwurzel angehöre.

Bisher sind also die Neuromeren des Rautenhirns nur gewissermassen auf äussere morphologische Eigenschaften hin untersucht worden und nur Orr und Béraneck haben auf die Kernverteilung in ihnen geachtet. Nirgends findet sich eine Angabe, dass sie anfangs anders aussehen als später, und es wird nur ganz allgemein erwähnt, dass sie sehr bald verschwinden. Über die Nervenbeziehungen ist sehr viel geschrieben, und doch sind sie wenig genau untersucht worden. Das zeigen die verschiedenen Resultate und unter anderem auch die Tatsache, dass erst sehr spät Angaben über den Zusammenhang des Abducens mit einem bestimmten Neuromer zu finden sind und dass diese Angaben sehr schwanken. Meist ist nur die Lage der Austritts- oder Eintrittsstelle des Nerven beschrieben, nur Neal versucht auf einem anderen, aber keineswegs einwandfreien Wege, nämlich durch das Studium der Entwicklung der Ganglienleiste, den Zusammenhang zu klären, und nur im Handbuch von Keibel und Mall finden sich Angaben über die Lage der Kerne zu den Neuromeren. Niemand hat versucht, an Spezialpräparaten den Verlauf der Fasern innerhalb des Hirnrohres bis zu ihren Ursprungskernen zu verfolgen und danach zu bestimmen, zu welchen Neuromeren die Hirnnerven gehören.

Auch ich habe anfangs eine grössere Anzahl von Hühnchenembryonen mit Kernfärbung hauptsächlich in Sagittal- und Horizontalschnittserien untersucht, doch musste ich bald einsehen, dass damit nichts Neues zu erreichen war. Daher ging ich bald dazu über, Serien durch Embryonen herzustellen, die mit Silberreduktionsmethoden nach Cajal, Bielschovsky, Paton und Modifikationen von ihnen behandelt waren und Nervenfasenfärbung, zum Teil auch Neuroblastenfärbung zeigten. Untersucht wurden Hühnchen, Schwein, Schaf, Kaninchen, Acanthias und Torpedo. Am klarsten erschienen die Verhältnisse bei den Säugetieren, die jedoch in richtigen Entwicklungsstadien, in geeigneter Fixierung

und genügender Anzahl nur schwer beschafft werden konnten. Trotzdem werden im folgenden in erster Linie die Resultate bei Schwein und Schaf berücksichtigt werden. Von einer Anzahl dieser Serien wurden Plattenmodelle hergestellt. Während diese Silberreduktionspräparate zum Studium der Nervenbeziehungen der Rhombomeren verwendet wurden, stellte ich mir für das Studium der weiteren morphologischen Entwicklung der Rhombomeren sagittale Celloidinserien mit Richtlinie durch Köpfe von Schweineembryonen bis zur Länge von 65 mm her. Die linke Hälfte der Höhlung der Rautengrube wurde dann mit der Plattenmethode derart modelliert, dass gewissermassen ein vergrößerter Ausguss der linken Hälfte des vierten Ventrikels entstand, an dem die Neuromeren als vorstehende Wülste, bezw. Leisten zu sehen waren.

Auf die Schilderung der Entwicklung der Neuromeren von ihren ersten Anfängen her möchte ich hier schon deshalb verzichten, um mich nicht auf eine weitläufige Diskussion der „primären“ Neuromerie und ihres Zusammenhanges mit der klassischen sekundären Neuromerie einlassen zu müssen. Meine Schilderungen beginnen daher mit Stadien, bei denen für die Neuromeren etwa die von Orr gegebenen Charakteristika gelten, das heisst, wo sie an der Innenfläche der Rautengrube durch eingesenkte, ungefähr quer stehende, muldenförmige Gruben dargestellt sind, die voneinander durch niedrige Leisten getrennt sind. Orr spricht von einem scheinbaren Septum, das man unwillkürlich dadurch zu sehen glaubt, dass die Kerne der Zellen der benachbarten Neuromeren zwar dicht an die geradlinige Grenze heranrücken, aber nie über sie hinweggreifen. Dass diese Grenze nicht nur eine optische ist, kann man aus folgender Tatsache ersehen: Die Schnitte durch Embryonen mit Silberreduktionsfärbung sind wegen der Sprödigkeit des Materials leicht zerreisslich, und wenn man sie nach der japanischen Methode mit Wasser aufklebt, so zerreißen sie leicht, wenn sie etwas zu stark erwärmt werden, und die kleinen Risslinien liegen — besonders bei Schnitten, die horizontal, parallel der Bodenfläche der Rautengrube angelegt sind, — mit grosser Regelmässigkeit in den Neuomerengrenzen und gehen mitten durch den inneren Grenzgrat. Wäre längs des scheinbaren Septums das Gewebe nicht von bedeutend geringerer Festigkeit als innerhalb der Neuromeren,

sondern gleich dicht, so dürfte die Risslinie nicht den Grat unterteilen, sondern müsste in einer Einsenkung enden. Diese Tatsache spricht meines Erachtens dafür, dass die Neuromeren morphologische Individuen sind, wie etwa die Urwirbel, und nicht durch Wachstum im engen Raum entstandene Falten einer homogenen Rohrwandung. Gegen letztere Annahme sprechen auch die Angaben Hills, dass die inneren Grate beim Hühnchen anfangs innere Furchen sind, was ich ohne Nachuntersuchung nicht bezweifeln möchte, zumal in manchen Zeichnungen späterer Untersucher, z. B. Neals, besonders bei Reptilienembryonen interneuromerale Furchen an der Innenwand des Rautenhirns zu sehen sind. Dass die Kerne in der Nähe des „Septums“ sich dem Lumen des Ventrikels mehr nähern sollen, als in der Mitte der einzelnen Teilstücke, kann ich nicht bestätigen und glaube Bilder, die dies Verhalten zeigen, teils für Schrägschnitte halten zu müssen, teils ist die helle Zone durch eine Anhäufung der sogenannten Hisschen Keimzellen hervorgerufen. Hier finden sich eine Menge von Teilungsfiguren, und zwar in jedem Schnitt von 10 μ und in jeder Neuomereneinsenkung eine grössere Anzahl, oft mehr als 20. Weniger dicht liegen die Mitosen in der Nähe der inneren Leisten. Während so die Zellvermehrung an der Innenfläche der Neuromeren stattfindet, geht an ihrer äusseren Oberfläche die Differenzierung vor sich. Es bildet sich um die kernreiche eine schmale, kernarme Zone aus, und mit dem Fortschreiten dieser Bildung gleichen sich die anfangs sehr tiefen äusseren interneuromeralen Furchen immer mehr aus. Schon vor dem ersten Auftreten jener kernarmen Zone lassen sich Nervenfasern an der Oberfläche der kernreichen Zone — Matrix nach His — mit Silbermethoden darstellen. Die differenzierte Zone nimmt nun sehr rasch zu, so dass an der äusseren Oberfläche des Hirnrohres bald von den Neuromeren nichts mehr zu sehen ist und nur noch die Stellen des Eintrittes bzw. Austrittes der grossen Nerven als Hügel die Lage der Neuromeren erkennen lassen. Während dieser Vorgänge sind in die äusseren interneuromeralen Falten Gefässe gelangt, die von der Nervenfasersonne eingeschlossen werden. Dies ist bei Säugetierembryonen regelmässig, bei Embryonen von Hühnchen nicht mit gleicher Konstanz nachzuweisen. Derartige Gefässe wurden schon von Zimmermann beobachtet. Ob sie segmentalen Wert haben,

ist zweifelhaft, da man an Embryonen in jede Falte des Gehirns Gefässe sich einsenken sieht.

Über die Angabe von Miss Platt, dass man die Hirnnerven an Präparaten mit Kernfärbung interneuromeral austreten sehen soll, muss ich mich nach meinen mit Boraxkarmin gefärbten Präparaten von Hühnerembryonen vom Anfang des 3. Tages sehr wundern. In ihnen scheint der Austritt des Trigeminus und Facialis streng auf je ein Neuromer beschränkt und dasselbe glaube ich auch an mit Silber imprägnierten Hühnchenembryonen dieses Alters zu sehen. Leider ist es mir auch an diesen Präparaten bisher noch nicht gelungen, Genaueres über die Kreuzung der motorischen Fasern zu sehen, da schon die ersten auftretenden Fasern beim Huhn zum Teil ventral kreuzen, und zwar meist schräg über die Breite eines Neuromers hinweg, so dass eine Identifizierung der Fasern und eine Unterscheidung zwischen motorischen und anderen unmöglich ist. Ich will den Faserverlauf zunächst bei Hühnerembryonen beschreiben, bei denen sich eben die Linsengrube eingesenkt hat und noch weit offen ist. Wenn ich im folgenden gerade auf die zentrifugalen (motorischen, sekretorischen usw.) Fasern der Hirnnerven besonderen Wert lege, so hat das seinen Grund darin, dass ich glaube, aus ihnen die Neuromerenbeziehungen der Nerven ableiten zu können. Die sensorischen Fasern sind dazu ungeeignet; denn in das Hirnrohr eingetreten, wenden sie sich sofort in die Längsstränge, in denen eine Verfolgung unmöglich ist und auch zwecklos wäre, da der Achsenzylinderfortsatz ja das bewegliche Element des Neurons ist. Er läuft zu den Kernen, die weit entfernt liegen und ganz verschiedenen Querschnittshöhen angehören. Anders die motorische Wurzel des Nerven: ihre Ursprungskerne dürften kaum grösseren Verschiebungen in der Längsrichtung des Hirnrohres unterliegen. Die Lage der Kerne zu den Neuromeren kann man also bestimmen, ja, die Kerne sind aus den Neuromeren entstanden. Wenn nun Fasern aus solchen Kernen, also motorische oder allgemein zentrifugale Fasern, in einen Hirnnerv austreten, so kann man daran seine Neuromerenbeziehung feststellen. Deshalb sind in der vorliegenden Arbeit nur die zentrifugalen Fasern oder die, welche ich für solche halten muss, berücksichtigt.

An Horizontalschnitten — als solche sollen im folgenden immer Schnitte bezeichnet werden, die annähernd parallel mit

dem Boden der Rautengrube laufen und die Neuromeren bilateral symmetrisch und ungefähr quer durchschneiden — durch die untere Hälfte des Hirnrohres (die hypencephale Region nach His) eines Hühnchens im erwähnten Stadium sieht man in der präotischen Region nur an der Oberfläche der Neuromeren 2 und 4 je eine Anzahl tief braunschwarz gefärbter Nervenfasern quergeschnitten, die also längs dieser Neuromeren von ventral nach dorsal laufen, während in den Neuromeren 3 und 5 keine Fasern und in 1 nur weiter dorsal ganz wenige Fasern zu erkennen sind, die vielleicht auf einem wenig früheren Stadium auch nicht vorhanden sein würden. In der postotischen Region finden sich in Neuromer 6 eine Anzahl Fasern, von denen einige in den Glossopharyngeus austreten. Das siebente Neuromer hat ebenfalls derartige Fasern, die kaudalwärts ohne scharfe Grenze immer weniger werden. Dafür sieht man hier zahlreiche ventral gelegene Längsfasern. Die ersten ventral kreuzenden Fasern sehe ich zwischen Neuromer 6 und 7 und zwar schräg von Neuromer 6 nach Neuromer 7 der anderen Seite laufend mit Wachstumskölbchen versehen. Ich gehe wohl nicht zu weit fehl, wenn ich annehme, dass jene eben angeführten Fasern, die gerade an denjenigen Neuromeren zu finden sind, an denen die Nerven anliegen, zu diesen Nerven gehören und wahrscheinlich ihre zentrifugalen Fasern sind. (Derartige zentrifugale Fasern, die sehr früh auftreten und von den ventromedial gelegenen Neuroblasten an der Oberfläche der Neuromeren dorsalwärts zur Austrittsstelle des Nerven laufen, sollen im folgenden als „Primärfasern“ bezeichnet werden.) Dabei muss ich allerdings erwähnen, dass beim Trigeminus die Zahl der Fasern von ventral nach der Austrittsstelle zuzunehmen scheint, was wohl damit zusammenhängt, dass die Neuroblasten sich auf diese Strecke verteilen. Durch die Liebenswürdigkeit von Herrn Professor Held durfte ich eines seiner Präparate sehen,¹⁾ bei dem die Neuroblasten der Portio minor des Trigeminus teils dicht an der Austrittsstelle, teils etwas davon entfernt liegen; aber man sieht ausserdem von ventromedial her viele Faserzüge kommen, die nach der Austrittsstelle umbiegen. Wenn man diese auch nicht vom Neuroblasten bis in den Nerv hinaus an einem Schnitt ver-

¹⁾ Das Präparat stammt von einer Gans, die bedeutend weiter entwickelt war. Das Linsenbläschen ist völlig geschlossen und vom Ektoderm getrennt.

folgen kann, so ist doch anzunehmen, dass es sich, wenigstens bei einem Teil von ihnen, um zentrifugale Fasern handelt, deren Kerne ventromedial liegen. Die Kerne der übrigen seitwärts austretenden zentrifugalen Nerven liegen zweifellos sämtlich ventromedial. Trotzdem bieten Querschnitte durch das Facialisgebiet in meinen Präparaten junger Hühnchen kein wesentlich anderes Bild, als solche durch das Trigeminusgebiet, wenn auch in jenen die Fasern zahlreicher sind, entsprechend dem starken motorischen Nerven. Der Trigeminskern scheint mir also keine prinzipielle, sondern nur eine graduelle Sonderstellung einzunehmen. Seine Neuroblasten liegen nur nicht ausschliesslich ventromedial, sondern zum Teil bis zur Austrittsstelle verteilt. Aber selbst das scheint kein dem Trigeminus allein zukommendes Charakteristikum zu sein; denn an der 1889 veröffentlichten Beobachtung von His jun., der mit aller Bestimmtheit bei einem menschlichen Embryo von 4 Wochen eine Anzahl von Neuroblasten dicht an der Austrittsstelle des Facialis sah, ist wohl nicht zu zweifeln.

Die auffallendsten Nervenengebilde in dem besprochenen Stadium sind zahlreiche grosse Neuroblasten, die sich über das ganze Zwischenhirn erstrecken und mit ihren Spitzen schräg nach hinten unten gerichtet sind. Aus ihnen gehen Nervenfasern hervor, die sich ventral an der Grenze zwischen Diencephalon und Mesencephalon zu einem Bündel sammeln. Dieses Bündel läuft ventral der Mittellinie angenähert an der Oberfläche des Hirnrohres hin und zwar längs der Zone, in der die motorischen Kerne auftreten. Es ist mit Sicherheit bis zum zweiten Neuromer zu verfolgen, aber da noch weiter hinten an der entsprechenden Stelle Längsfasern zu sehen sind, möchte ich eine Fortsetzung des Bündels, vielleicht durch Fortsätze von weiteren, über die Neuromeren verbreiteten Neuroblasten ergänzt, annehmen. Diese absteigende Bahn tritt noch deutlicher an wenig älteren Embryonen — auch mit noch offener Linsengrube — in Erscheinung. Es ist schwer, über die Bedeutung dieser absteigenden Bahn etwas zu sagen; aus ihrem sehr frühen Auftreten kann man wohl mit Recht schliessen, dass sie einige Wichtigkeit hat. Thalamospinale und thalamobulbäre Bahnen sind aufsteigende, kommen also nicht in Betracht. Die Radix mesencephalica liegt weiter hinten im Mittelhirn und dorsal, und eine so hochgradige Verschiebung nach hinten wird im Laufe der Entwicklung wohl nicht stattfinden können. Die

einzige bekannte Bahn, die in Frage käme, wäre das Längsbündel des zentralen Höhlengraues (Schütz), das seinen Ursprung an im Thalamus und Hypothalamus verteilten Zellen hat.

Auch die oben beschriebenen an den Neuromeren ventrodorsal laufenden Fasern werden in den besprochenen Stadien viel zahlreicher. Allerdings bleiben sie nicht mehr rein auf diejenigen Neuromeren beschränkt, mit denen die seitlichen zentrifugalen Nerven zusammenhängen, sondern sie treten — wenn auch spärlicher — auch in den Neuromeren 1, 3 und 5 auf. Ich halte auch einen grossen Teil dieser Fasern, die His an späteren Stadien als Bogenfasern bezeichnet, für zentrifugal, — um den Ausdruck „motorisch“ zu vermeiden. Der Grund dafür wird bei Besprechung späterer Stadien ersichtlich. Für diese Stadien stehen mir nun Säugetierembryonen zur Verfügung. Zunächst möchte ich, um die Anordnung der zu besprechenden Gebilde im Querschnitt zu zeigen, noch einmal auf die Querschnittsserie durch einen ca. 9 mm langen Schafembryo zurückkommen, an dem ich oben gelegentlich der Erörterung über die Hissche Längseinteilung die Formverhältnisse der Neuromeren dargestellt habe (Textfig. 1—6, S. 390 f.). Zur weiteren Charakterisierung des Embryo mag dienen, dass die Linsengrube eben durch einen Zellpfropf geschlossen und noch innig mit dem Ektoderm verbunden ist. Der Ductus endolymphaticus ist angedeutet. Die kernreiche Zone, welche die eigentlichen Neuromeren darstellt, die Hissche Matrix oder Innenplatte, ist schraffiert dargestellt. Die Nervenfasern sind dargestellt, soweit sie schwarz gefärbt waren, und die Anhäufungen von schwarzgefärbten Neuroblasten sind durch kleine Kreise schematisiert, deren jeder eine Mehrheit von Neuroblasten vorstellen soll. Diese Neuroblastenanhäufungen sieht man nun an allen Schnitten an derselben Stelle und zwar bilateral symmetrisch an der Oberfläche der Neuromeren, und zwar ventralmedial, der Mittellinie dort angenähert, wo später die ventralen Kommissurenfasern kreuzen. Am Modell der Innenplatte stellt sich die Neuroblastenansammlung als eine mehr oder minder hervorragende, flache Leiste dar, die in der ganzen Länge des Rautenhirns ventral nahe und parallel der Mittelebene hinläuft. Sie ist nicht unterbrochen und scheint keine den Neuromeren vergleichbaren Segmente zu haben, wenn sie auch in ihrer Stärke sehr wechselt. So ist sie z. B. im Facialisgebiet sehr dick und senkt sich tief

in das entsprechende Neuromer ein, während sie im Trigemini-gebiet stellenweise nur eine einfache Schicht von Neuroblasten an der ventralen Oberfläche der Neuromeren bildet. Es kann keinem Zweifel unterliegen, dass dieser ununterbrochene Neuroblastenstrang die erste Anlage der motorischen Kernmassen darstellt und zwar sowohl der sogenannten Vorderhorn- als auch Seitenhornkerne. Ich will für diesen Strang den Ausdruck „primäre motorische Kernsäule“ gebrauchen.

Bei dem ca. 9 mm langen Schafembryo sind im Gebiet des Neuromers 1 noch keine Neuroblasten gefärbt und erst im Gebiete des Trochlearis sieht man an ganz vereinzelt Neuroblasten Andeutung von Färbung. Es sind im eigentlichen Hirngebiet überhaupt nur die motorischen Neuroblasten des seitlichen gemischten Systems mit Silber tingiert, während die Augenmuskelkerne, Okulomotorius, Trochlearis und Abducens noch nicht gefärbt sind und die Hypoglossuszellen erst teilweise Imprägnation zeigen. Dabei kann ich mit Bestimmtheit angeben, dass die Hypoglossuszellen dorsolateral von den Accessoriuszellen liegen und dass die Fasern beider Nerven sich beinahe rechtwinklig kreuzen. Dieser Befund weicht von dem von His erhobenen ab, der an eosin-gefärbten Präparaten vom Menschen am Ende des ersten Monats die Accessoriuszellen dorsal von dem Hypoglossuskern liegen sah. Ich will damit nicht sagen, dass beide Befunde unvereinbar seien. Aus meinen Beobachtungen geht hervor, dass die Kerne der seitlich austretenden Nerven früher entwickelt sind als die der rein motorischen Nerven und eine ganz ventromedial gelegene Säule darstellen, ferner dass die Differenzierung neuer Kerne immer an der Oberfläche der Matrix vor sich geht. Diese müssen also primär stets dorsal und lateral von ersteren liegen und können erst sekundär eine andere Lage einnehmen. So ist es möglich, dass — in einem im Vergleich zum 9 mm langen Schafembryo etwas älteren Stadium — am Ende des ersten Schwangerschaftsmonates beim Menschen die Hypoglossuszellen ventral gerückt sind. Schon jetzt sei gesagt, dass auch der Abducenskern dorsolateral von dem Facialiskern liegt und dass die Kerne des Okulomotorius und Trochlearis weiter lateral liegen, als man die oben beschriebene Kernsäule der seitlich austretenden Nerven erwarten würde, wenn es an diesen Stellen solche gäbe.

Während also im Neuomer 1 Neuroblasten noch nicht erkennbar sind, werden sie, sobald man in das Gebiet des zweiten Neuomers kommt, in der Gegend der primären Kernsäule als eine einschichtige Auflage auf die Ventralseite der Matrix sichtbar (Textfig. 2). Die Fortsätze der Neuroblasten sind zur Hauptsache lateralwärts gerichtet, und eine Anzahl Primärfasern ziehen dorsalwärts an der Oberfläche der Innenplatte hin, sich innerhalb des unteren Drittels des Hirnrohres haltend.

In dem interneuomeralen Septum — in der Figur schräg geschnitten — liegen locker verteilte Zellen, an denen keine Differenzierung wahrnehmbar ist. Sie haben sich von der Oberfläche des Neuomerenkernes — wenn man die Innenplatte der Neuomeren so bezeichnen will — losgelöst. Die Stelle ihrer stärksten Anhäufung habe ich in den Figuren punktiert umzogen. Bis in ihre Nähe sieht man Nervenfasern angeschnitten und zwar je höher man kommt, desto kürzer abgeschnitten als Ausdruck dafür, dass die ventral noch ziemlich in der Querschnittsebene liegenden Fasern immer mehr in die Längsrichtung umbiegen, je mehr sie dorsalwärts gelangen. Sie streben der Austrittsstelle des Trigeminus zu. Wenn diese auch über eine gewisse Strecke ausgedehnt ist, so tritt doch in ihrer Nähe eine beträchtliche Verdichtung der Fasern ein, und da auch hier undifferenzierte Zellen liegen und die Fasern fast rechtwinklig scharf umbiegen, wird leicht der Eindruck eines motorischen Kernes erweckt. Mir ist es aber an diesem Stadium nicht gelungen, auch nur einen Neuroblasten in der Nähe der Austrittsstelle des motorischen Trigeminus mit Sicherheit festzustellen. Allerdings muss ich erwähnen, dass meine Schnitte aus anderen Gründen ziemlich dick waren ($10\ \mu$). Dagegen sehe ich einige verstreute Neuroblasten in dem interneuomeralen Septum $\frac{2}{3}$ zwischen primärer Kernsäule und Austrittsstelle der Portio minor. Sie sind in der Textfig. 3 durch je zwei kleine Kreise auf jeder Seite versinnbildlicht. Es macht den Eindruck, als wenn auch diese Neuroblasten ursprünglich in der primären Kernsäule gelegen hätten und erst sekundär dorsolateralwärts gerückt seien. Stellenweise wird das Bild durch gerade hier eintretende Gefäße getrübt. Der Schnitt zeigt reichliche Nervenfasern, wie überall, wo ein Septum in seinem untersten Teile angeschnitten ist. Dieser Erscheinung werden wir auch auf

Horizontal- und Sagittalschnitten begegnen. Es legen sich nämlich die Mehrzahl der längs der Oberfläche der Innenplatte verlaufenden Fasern wohl aus mechanischen Gründen in die Septen ein. Auf dem Schnitt sind drei Neuromeren 1 bis 3 und seitlich vom Hirnrohr die beiden Trigeminusganglien in grosser Ausdehnung angeschnitten. Auch die Portio minor sieht man auf eine grössere Strecke.

Textfig. 4 stellt einen etwas weiter hinten gelegenen Schnitt dar, der nur noch Neuromer 2 und 3 trifft. Man sieht einige wahrscheinlich schon aus Neuromer 3 stammende Fasern dicht an der Austrittsstelle, nachdem sie scharf in diese Richtung umgebogen sind. Das ist ungefähr die Stelle, wo später der klassische motorische Kern des Trigeminus liegt. Ferner sieht man ventral einige Fasern, die aus spärlichen Neuroblasten des dritten Neuromers stammen und sich noch dem Trigeminus anschliessen.

Geht man in der Serie weiter nach hinten, so kann man stets noch — wenn auch spärlich — Neuroblasten und der Austrittsstelle des motorischen Trigeminus zustrebende Fasern im Gebiete des dritten Neuromers sehen. Gefärbte ventral kreuzende Fasern finde ich weder hier noch weiter vorn.

Weiter nach hinten folgen Schnitte, die dorsal das Neuromer 3 und ventral das Neuromer 4 treffen. Letzteres, das Facialisneuromer, ist ventral sehr breit, wie man aus der Textfig. 1 ersehen kann. Die primäre Kernsäule ist in ihrem Bereiche sehr mächtig, auf dem Querschnitt oft kreisförmig. Zahlreiche Primärfasern gehen von ihr dorsolateralwärts zur Austrittsstelle des Facialis. Von der Abbildung eines derartigen Schnittes habe ich abgesehen. Die Textfig. 5 zeigt einen Querschnitt, der nur das Facialisneuromer 4 trifft. Die Ganglienmasse des Akustiko-Facialis ist von vorn her eben angeschnitten, und einzelne Facialisfasern sind ausserhalb des Hirnrohres sichtbar.

Textfig. 6 zeigt einen Schnitt, der zwischen Gehörblaschen und Akustiko-Facialis hindurchgeht und jenes vorn, diesen hinten im Querschnitt trifft. Dorsal ist schon Neuromer 5, ventral noch Neuromer 4 mit der mächtigen primären Kernsäule angeschnitten. Einzelne Primärfasern des Facialis sind sichtbar.

Weiter hinten liegende Schnitte habe ich nicht mehr abgebildet. Die primäre Kernsäule behält ihre Stärke mit geringen

Schwankungen bei und ändert nur ihre Querschnittsform, die, je weiter man nach hinten kommt, mehr und mehr die Gestalt einer liegenden Ellipse annimmt. Auf der ganzen Strecke bis in das Hypoglossusgebiet hinunter verlaufen von ihr kontinuierlich dorso-lateralwärts Primärfasern, die sich der Reihenfolge nach dem Facialis, dem Glossopharyngeus, dem Vagus und dem Accessorius anschliessen. Jedoch sind die Grenzen zwischen den einzelnen Nervengebieten nicht genau festzustellen. Erst mit dem Auftreten der Hypoglossusfasern wird das Bild wesentlich anders dadurch, dass ein anders gearteter Faserzug hinzukommt. Wie schon oben kurz erwähnt war, bilden die ersten Hypoglossuszellen den dorsolateralsten, später auftretenden Teil der primären Kernsäule, und während die seitlich austretenden zentrifugalen Nerven — hier Vagus bzw. Accessorius — dorsolateralwärts an der Oberfläche der Innenplatte hinlaufen, durchkreuzen die Hypoglossusfasern dieselben fast rechtwinklig und gelangen auf einem kurzen Wege an die Oberfläche des Hirnrohres (siehe auch Fig. 13).

Nunmehr bespreche ich eine Horizontalschnittserie der Rautengrube eines Schafembryo von 13 mm Länge. Das Linsenbläschen ist vom Ektoderm völlig abgelöst. Wir verfolgen die Serie von ventral nach dorsal. Zuerst wird das Facialisneuromer 4 angeschnitten. Man sieht dicht gedrängte, aber nicht sehr starke Fasern ventral die Mittelebene kreuzen. Wenig höher ist eine dünne Schicht von intensiv gefärbten Nervenfasern angeschnitten, die die primäre Kernsäule unten und lateral rinnenförmig einhüllt. In ihr verlaufen die Fasern in den verschiedensten Richtungen. Ausser zahlreichen Längsfasern, die bei dieser Schnittrichtung natürlich die auffallendsten sind, wenden sich viele Fasern ventralwärts, um auf die Gegenseite zu ziehen. Andere Fasern — und das sind für uns die wichtigeren, — wenden sich zwar anfangs auch ventral, biegen dann aber scharf um und ziehen an der Oberfläche der primären motorischen Kernsäule dorsalwärts, indem sie aus dieser immer neue Fasern erhalten. Deshalb erscheinen die primären zentrifugalen Fasern, — denn um solche handelt es sich hier, — auf den Horizontalschnitten als eine von der Kernsäule deutlich gesonderte Schicht. Der Anschnitt der Kernsäule wird immer grösser und es ist auffällig, dass die grosse Mehrzahl der Neuroblasten, — beinahe alle, — im hinteren Teil des vierten und im fünften Neuromer mit ihren Fortsätzen nach

vorn gerichtet ist. Bei den Primärfasern macht sich auch bereits eine Konvergenz nach aussen zu bemerkbar. Die höchstgelegenen Neuroblasten in der primären Kernsäule sind wieder quer zur Längsachse orientiert und gehen direkt in Primärfasern über. Das gleiche gilt für fast alle die weniger zahlreichen Neuroblasten des dritten Neuromers. Textfig. 7 stellt einen Schnitt dar, der die primäre Kernsäule im Gebiete des zweiten Neuromers querschräg und im Gebiete des fünften Neuromers längsschräg trifft. Hier liegt die Hauptmasse der Neuroblasten mit den Fortsätzen proximalwärts, wie schon oben erwähnt, was in der Figur, ohne den Gesamteindruck zu verwischen, nicht zum Ausdruck zu bringen war. Die Fasern dieser Zellen schliessen sich den austretenden Facialisfasern an. Es fragt sich nur, zu welchem Neuromer diese Zellen zu rechnen sind. In der vorliegenden Serie und in Sagittalschnittserien von 17—18 mm langen Schweine-Embryonen wird man sie unbedenklich dem fünften Neuromer zuweisen und auch am Modell der Innenplatte erscheint es so. Wenn man aber das Modell der Innenplatte des 9 mm langen Schafembryo (Textfig. 1) betrachtet und die grosse ventrale Breite des Facialisneuromers 4 in Rücksicht zieht, so kann man die Möglichkeit nicht von der Hand weisen, dass die Verbreiterung sich bis in dieses Gebiet erstreckt. Der kleinere Teil der Neuroblasten steht senkrecht zur Längsachse der Kernsäule. Aus ihnen stammen einesteils Primärfasern, die sich dem Facialis anschliessen, anderenteils austretende Abducensfasern, die in Textfig. 7 reichlich zu sehen sind. Intensiv gefärbte, ventral kreuzende Fasern sind weder vorn noch hinten vorhanden. Im Gebiete der Neuromeren 3 und 4 geht der Schnitt dorsal von der Kernsäule, und es fällt sofort der Unterschied in der Anzahl der Primärfasern im Gebiete von N. 3 und N. 4 auf. Während im ersteren die Fasern nur einzeln oder in Bündeln bis zu fünf Stück liegen, sind die Bündel im Gebiete des vierten Neuromers viel stärker, bis zu zehn und mehr Fasern, und stehen auch dichter. Es sind, wie die römische VII in der Figur andeutet, Facialisfasern, während ich zu jenen eine römische V mit dem arabischen Index 3 gesetzt habe (V_3), als Ausdruck dafür, dass es sich — wenigstens bei der Mehrzahl — um zentrifugale Fasern des Trigeminus handelt, die aus dem Gebiete des Neuromers 3 stammen. Ein grosser Teil dieser Fasern erreicht wenige Schnitte dorsalwärts seinen höchsten Punkt, biegt um und

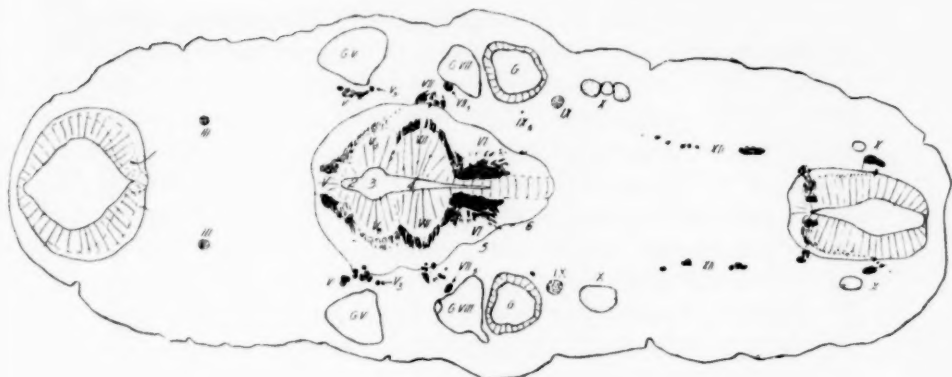


Fig. 7.

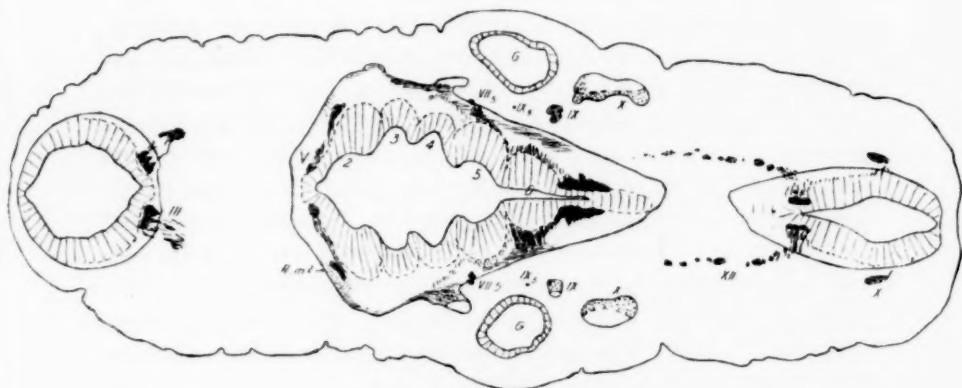


Fig. 8.



Fig. 9.

Fig. 7—9. Horizontalschnitte durch den Kopf eines Schafembryo. Silber-
 imprägnation. Arabische Ziffern = Neuromerenummern; Römische Ziffern
 = Hirnnerven; G = Gehörbläschen; G mit römischen Ziffern = Ganglion

tritt als gesondertes Bündel in die Portio minor aus. Dieses Bündel ist auch ausserhalb des Hirnrohres (absteigend) in der Textfig. 7 zu sehen und gleichfalls mit V_3 bezeichnet; die übrigen austretenden oder ausgetretenen Bündel des motorischen Trigeminus entstammen der primären Kernsäule im Gebiet des Neuromer 2, von der ein Teil links angeschnitten ist. Sehr schwierig ist zu entscheiden, ob auch die ventralen Partien des ersten Neuromers an den motorischen Trigeminus Fasern abgeben, wie überhaupt die Abgrenzung des Neuromers nach vorn mir zur Zeit noch deswegen Schwierigkeiten macht, weil durch die starke Isthmuskrümmung Grenzen vorgetäuscht werden können. Die Zahl der Neuroblasten im Gebiete des ersten Neuromers ist sehr gering, aber doch ist in diesem Stadium eine ununterbrochene Kernsäule bis zum Okulomotorius vorhanden.

Im Gebiete des vierten Neuromers sieht man in Textfig. 7 den Austritt des Facialis in dicken, kompakten Bündeln. Der Biegungsscheitel dieser Bündel liegt in den nächsthöheren Schnitten in der kernarmen Zone. Ausserdem liegt der Medialseite des Ganglion acusticum beiderseits ein mit VII_5 bezeichnetes Bündel an, das deswegen in der Figur so stark erscheint, weil es schräg geschnitten und nicht sehr dicht gefügt ist. Sein Biegungsscheitel innerhalb des Hirnrohres und seine Austrittsstelle liegen sehr viel weiter dorsal als diejenigen des übrigen Facialis, aber ventral von den sensiblen Wurzeln, und seine Fasern stammen aus dem fünften Neuomer und dem Anfangsteil des sechsten. Auch an einer Sagittalschnittserie konnte ich Fasern davon bis in die Gegend des Glossopharyngeus — Anfang des sechsten Neuromers — erkennen. Vermutlich handelt es sich um den zentrifugalen Teil des Nervus intermedius. Besonders hervorgehoben zu werden verdient noch ein schmales, aber sehr dichtes und intensiv gefärbtes Bündel, das medial von der Gehörblase liegt (IX_5). Es tritt zwischen dem fünften und sechsten Neuomer aus und entstammt wahrscheinlich, nach der Faserrichtung zu schliessen, dem fünften. Eigentümlich ist es, dass es zwar dicht vor den anderen Glossopharyngeusfasern austritt, sich aber von ihnen wieder entfernt und zwischen Gehörblase und Hirn ventralwärts zieht. Hierdurch wird seine Sonderstellung bekundet. Erst ventral vom Gehörbläschen zieht es im Bogen nach hinten, um sich mit dem Glossopharyngeus zu vereinigen.

Ich will kurz erwähnen, dass Shipley und auch von Kupffer zwischen Facialis und Glossopharyngeus einen schwachen, primitiven Akustikus (bei *Petromyzon*) gefunden haben, der bald verschwand, und dass Hoffmann bei *Acanthias* von 32 bis 35 Urvirbeln einen neuen Nervenauswuchs zwischen Facialis und Glossopharyngeus fand, den er für rudimentär hielt. Möglicherweise handelt es sich auch hier um eine derartige Glossopharyngeuswurzel. Ihr Verschwinden könnte man vermutungsweise damit erklären, dass sie in den Glossopharyngeus einbezogen wird, was durchaus möglich ist, da in meinem Präparat die Insel, die sie mit dem Glossopharyngeus bildet, nur indifferentes mesenchymatöses Gewebe enthält. Die übrigen Gebilde ausserhalb des Hinterhirnes in Textfig. 7 bedürfen wohl kaum der Erklärung. Links ist das Mittelhirn mit den vordersten austretenden Fasern des Okulomotorius angeschnitten. Ein wenig weiter hinten ist der Nervus oculomotorius quer getroffen. Hinten geht der Schnitt ein wenig schräg durch den kaudalsten Teil der Medulla oblongata mit dem Kerne des Hypoglossus und des seitlichen gemischten Systems. Im übrigen sind die Hirnnerven überall durch römische, die Rhombomeren durch arabische Ziffern kenntlich gemacht. Ein G vor der römischen Zahl bedeutet das Ganglion des betreffenden Nerven.

Die Textfig. 8 stellt einen weiter dorsal gelegenen Schnitt dar. Getroffen sind die Neuromeren 2 bis 7. Die primäre Kernsäule ist angeschnitten, vorn im Gebiete des zweiten Neuromers beinahe quer und hinten im Gebiete des siebenten Neuromers längs schräg. An erster Stelle sieht man zahlreiche Primärfasern, die zur Austrittsstelle des Trigeminus hinziehen. Etwas lateral sieht man gleichfalls ein starkes Bündel angeschnitten, das aus weiter proximal gelegenen und daher erst in den höheren Schnitten sichtbaren Zellen der primären Kernsäule — vielleicht aus dem Gebiete des ersten Neuromers — stammt und einige Schnitte tiefer in ein Nervenfaserknäuel hineingeht, welches die Lage des klassischen Trigeminskernes hat. Jedoch sind in meinem Präparat zwischen den starken Faserbündeln Neuroblasten nicht sicher zu erkennen. Das kann einerseits daran liegen, dass die Färbung unvollständig sein kann, was ich aber nicht annehmen möchte, weil in allen anderen motorischen Hirnnervenkernen die Neuroblasten sehr intensiv gefärbt sind; zweitens daran, dass gefärbte

und zu ihrer Längsachse quergeschnittene Neuroblasten zwischen den sehr starken Nervenfasensträngen der Beobachtung in einem $10\ \mu$ dicken Schnitt entgehen können; drittens daran, dass sie an dieser Stelle noch nicht oder überhaupt noch nicht vorhanden sind. Eine Entscheidung hierüber kann ich nicht treffen und möchte nur mit Vorbehalt meine Vermutung wiederholen, dass der klassische Trigeminskern sich aus Zellen zusammensetzt, die anfangs weiter ventro-medial gelegen haben und sich erst sekundär um die Austrittsstelle des Nerven sammeln. Erwähnen werde ich diese und eine andere Möglichkeit noch bei Besprechung einer Serie durch einen ca. 16 mm langen Schafembryo, bei dem auch der von His jun. beim Menschen entdeckte Austrittskern des Facialis zu sehen ist.

Von der Stelle des klassischen motorischen Trigeminskernes zieht, der Krümmung des Hirnrohres folgend, ein Längsfasersystem, annähernd immer in der gleichen Entfernung von der primären Kernsäule bleibend, kranialwärts. In diesem Längsfasersystem liegen Zellen verstreut, die sich als Neuroblasten an einem späteren Stadium herausgestellt haben. Vermutlich handelt es sich hier um die Radix mesencephalica des Trigemini. Auf die betreffende Stelle im Schnitt weist ein Pfeil mit der Bezeichnung Rm hin.

Im dritten Neuromer sieht man in Textfig. 8 an der Oberfläche der Innenplatte keine Primärfasern mehr, weil der Schnitt dorsal von ihrem Scheitelpunkt liegt. An der Oberfläche des Hirnrohres sind hier schon der sensible Längsstrang und die Eintrittsstellen der sensiblen Trigemini- und Akustiko-Facialiswurzeln angeschnitten. Im Gebiete des vierten Neuromers, also etwas weiter ventral, sind noch einzelne Fasern, und zwar je weiter dorsal, desto weiter lateralwärts angeschnitten, deren Verlauf dem der primären motorischen Bündel ähnelt, doch kann es sich auch um sensible Fasern oder kurze Bahnen handeln, da ihr Krümmungsscheitel dorsal von den sicher zentrifugalen Fasern liegt. Im Gebiete von Neuromer 5 sehen wir in Textfig. 8 auf der rechten Körperseite an der Oberfläche der Innenplatte Primärfasern sich zu Bündeln sammeln und austreten. Es ist dies das locker gefügte Bündel des Facialis, das wir bereits in Textfig. 7 ausserhalb des Hirnrohres dem Facialis angelagert sahen (VII^a). Hier geht der Schnitt also gerade durch den Krümmungsscheitel dieses Bündels. Zwischen Gehörbläschen und Hirn ist wieder der

aus dem fünften Neuromer kommende Anteil des Glossopharyngeus (IX₅) als einzelner Nerv sichtbar. Im Gebiet des sechsten Neuromers sind zahlreiche Primärfasern vorhanden, die zum grössten Teil in den Glossopharyngeus eintreten, auf der linken Körperseite, wo der Schnitt ein wenig weiter dorsal liegt, schon stark der Oberfläche zustrebend und ein in Beziehung zu den motorischen Nerven stehendes Längsfasersystem kreuzend.

Im siebenten Neuromer geht der Schnitt längs schräg durch die primäre Kernsäule. Die hier entspringenden zentrifugalen Fasern gehen aufsteigend zum Vagus.

Die Textfig. 9 stellt die linke Hälfte eines weiter dorsal gelegenen Schnittes dar. Die primäre Kernsäule ist getroffen im Gebiete des Mittelhirns (Okulomotoriuskern) ungefähr in der Gegend zwischen erstem und zweitem Neuromer und rückwärts vom siebenten Neuromer auf einer grösseren Strecke. Die in der Gegend zwischen erstem und zweitem Neuromer gelegenen Neuroblasten senden ihre Primärfasern zum motorischen Trigeminus, ihre Fortsetzung und Austrittsstelle liegt wegen der Brückenkrümmung auf einem tieferen Schnitt. An der mit Rm? bezeichneten Stelle ist ein Längsfaserzug mit Zelleneinlagerung zu sehen, der bis zur Stelle des dorsalen (klassischen) Trigeminuskernes hinzieht und vielleicht die Radix mesencephalica darstellt. Im Gebiete der Neuromeren 3 bis 5 sind keine motorischen Fasern mehr sichtbar. Zwischen Neuromer 5 und 6 sieht man den Krümmungsscheitel von zentrifugalen Faserbündeln. Das proximale mit VII₅ bezeichnete wendet sich nach vorn, um an der in Textfig. 8 bezeichneten Stelle das Hirnrohr zu verlassen und sich dem Facialis anzuschliessen. Es handelt sich wahrscheinlich um den sekretorischen Teil des Intermedius. Das vorderste der mit IX bezeichneten Bündel ist jenes, das sich durch seinen isolierten Verlauf zwischen Hirnrohr und Gehörbläschen auszeichnende Bündel, das schon auf den Textfig. 7 und 8 sichtbar ist (IX₅) und sich erst ventralwärts von der Gehörblase mit dem Glossopharyngeus vereinigt. Im übrigen sieht man aus dem Neuromer 6 zahlreiche Nervenfasern des Glossopharyngeus austreten. Im Gebiete des Neuromers 7 sind dorsalwärtsziehende Fasern des Vagus reichlich angeschnitten. Dahinter folgt der gemeinsame Kern des Vagus und Hypoglossus, und zwar dort, wo er am meisten dorsal angeschnitten ist — im Schnitte vorn —,

am breitesten, weil dort die dorsolateral liegenden Hypoglossuszellen mit getroffen sind, während weiter hinten nur die untersten Zellen des Vagus angeschnitten sind. Noch weiter hinten wird das Bild komplizierter, weil es wegen der Nackenkrümmung einen kontinuierlichen Übergang von einem Horizontalschnitt zu einem schrägen Querschnitt darstellt. Eine ununterbrochene Reihe von kurz abgeschnittenen Primärfaserbündeln läuft von den medialen Zellen der primären motorischen Kernsäule schräg nach dorsal zur Austrittsstelle des motorischen Vagus bzw. Accessorius, während eine Anzahl dünnerer Faserbündel jene Reihe durchkreuzt und der Austrittsstelle des Hypoglossus zustrebt. Der Vergleich mit den weniger schräg liegenden Schnitten der Textfig. 7 und 8 wird das Bild verständlich erscheinen lassen. Im idealen Querschnitt würden sowohl die Hypoglossus- als auch die Vagusfasern bis zum Austritt längs getroffen sein, ähnlich wie es im Schema Textfig. 14 dargestellt ist.

Eine weitere Horizontalschnittserie durch den Kopf eines etwa 16 mm langen Schafembryo zeigt auch sehr klare Neuroblasten und Nervenfaserbilder. Von dieser Serie habe ich auch ein Modell der Innenplatte etc. angefertigt, von dessen Beschreibung ich hier absehen will. Im allgemeinen lässt sich an dieser Serie alles bestätigen, was von der eben besprochenen gesagt war. Nur das isolierte Glossopharyngeusbündel IX₅ habe ich an ihr nicht auffinden können. Es ist wahrscheinlich schon in den Glossopharyngeus aufgenommen worden. Der grösseren Länge des Embryo entsprechend, ist er überall weiter entwickelt, und auch die Zahl der Neuroblasten hat zugenommen. Sie nehmen einen immer breiteren Raum an der Oberfläche der Neuromeren ein, besonders im Gebiete der somatisch-motorischen Nerven, und während in den jüngsten Stadien die Fasern der somatisch-motorischen und visceral-motorischen Nerven sich durchkreuzten und ihre Kernmassen nebeneinander lagen, scheint sich schon jetzt eine Sonderung anzubahnen, indem zum Beispiel der Hypoglossus- und Vagoaccessoriuskern eine gemeinsame durchmischte Masse bilden, die von in zwei verschiedenen Richtungen laufenden Fasern durchzogen wird. Es scheint, als wenn sich die Neuroblasten in der Richtung des Faserverlaufes ihrer Kerne verschoben. Geht diese Verschiebung noch weiter, so muss schliesslich eine Aufhebung der Faserdurchkreuzung und eine völlige Isolierung

und Umlagerung der Kerne resultieren in der Art, dass der anfangs lateral gelegene somatisch-motorische Kern hauptsächlich ventral und etwas lateral rückt, während der anfangs medial gelegene visceral-motorische Kern dorsolateralwärts gelangt. Der innigen Durchkreuzung der Fasern folgend, müssen auch die Kerne sich gegenseitig durchwandern. Schliesslich liegt dann der visceromotorische Kern dorsolateral zu dem somatomotorischen Kern, wie es His angibt und wie es in der Arbeit von Streeter im Keibel-Mallischen Handbuch gezeichnet ist. Dieses Verhalten kann aber nur sekundär sein und kommt nur späteren Stadien zu. Beim Abducens und Facialis findet eine derartige Umlagerung nicht statt, denn es bestand auch anfangs nur eine minimale Faserdurchkreuzung. Doch davon soll weiter unten die Rede sein.

In diesem Stadium sind nun im Gebiete des Facialis, Trigemini und Glossopharyngeus in der Nähe der Austrittsstellen eine Menge von Zellen zu sehen. Beim Facialis ist leicht wahrzunehmen, dass sie von der ventralen Oberfläche der Innenplatte stammen und zwischen den Facialisbündeln sich dicht gedrängt dorsolateralwärts verschieben. Es ist wahrscheinlich, dass diese Zellen keine Neuroblasten sind und auch keine werden. Wenig weiter dorsalwärts differenzieren sich aber grössere Mengen von Neuroblasten aus der Oberfläche der Innenplatte. Ein Teil von ihnen ist mit der Spitze nach unten gerichtet, wie es His zeichnet, andere nach hinten, wieder andere mit der Spitze lateralwärts, und es macht stellenweise den Eindruck, als ob es sich um zentrifugale Fasern handelte, die in die dorsale Wurzel, z. B. in den Akustikus, hineingehen, so wenig wahrscheinlich es mir ist. Der ganze mit Spongioblasten und Nervenfasern untermischte Zellkomplex ist wenig scharf abgegrenzt, hat sich aber von der Innenplatte losgelöst bis auf die Stellen, an denen die Neuromeren am stärksten hervorragen. Er stellt eine dorsale Kernsäule dar, die sich in der gleichen Niveauhöhe parallel der Hirnachse vom Anfangsteil des Vagus nach vorn mindestens bis zum Isthmus und Anfangsteil des Mittelhirns verfolgen lässt. Man kann zweifeln, ob man den klassischen dorsalen Trigeminskern und den von His junior entdeckten dorsalen accessorischen Facialis-kern zu dieser dorsalen Kernsäule rechnen darf oder ob man annehmen muss, dass jene aus der primären motorischen Kernsäule

oder von der Oberfläche der Neuromeren stammen und erst sekundär durch Wanderung in der Richtung ihrer Fasern in die Nähe der Austrittsstelle gelangt sind. Mit Wahrscheinlichkeit kann man aber annehmen, dass diese dorsale Kernsäule nach

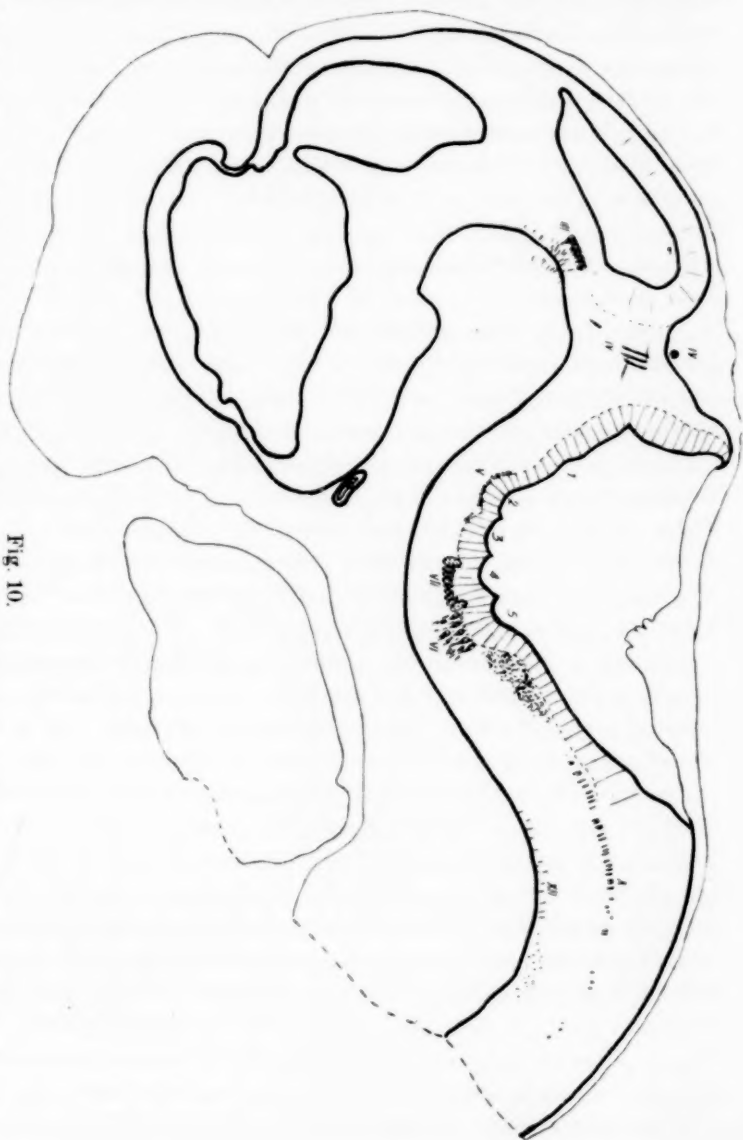
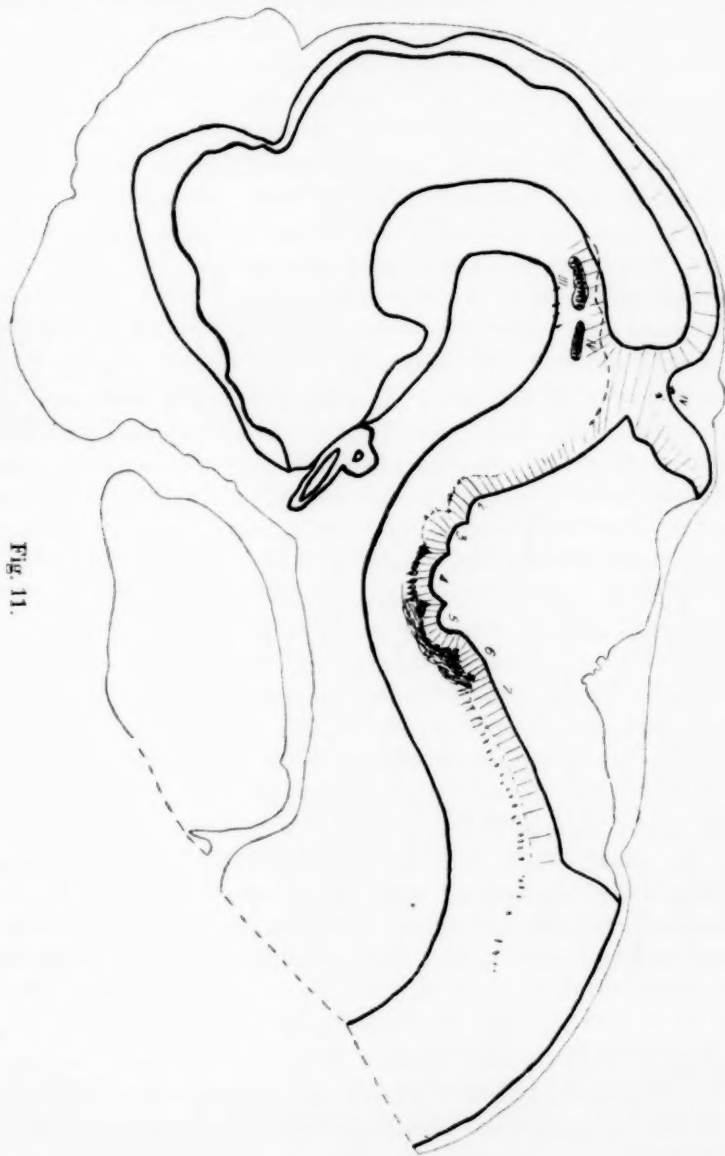


Fig. 10 und 11. Sagittalschnitte durch den Kopf eines Schweineembryo von 17—18 mm, Silberimprägnation, leicht schematisiert. Fig. 11 der Mittelebene näher, Fig. 10 weiter lateral.

vorn vom Trigeminus die Radix mesencephalica dieses Nerven enthält. Jedenfalls ist ihre Zusammensetzung eine weit kompliziertere, als die der primären motorischen Kernsäule, und vielleicht entstammt ihr auch der Nucleus dentatus des Kleinhirns.



Sagittalschnitte sind für das Studium des Faserverlaufes der motorischen Hirnnerven im allgemeinen ungünstig, da fast alle motorischen Fasern mehr oder weniger quer getroffen werden. Hingegen stellen sie die Lage der Neuromeren gut dar, und die Nervenbeziehungen treten manchmal mit schematischer Klarheit hervor. Die Textfig. 10 und 11 stellen zwei leicht schematisierte Sagittalschnitte durch einen 17—18 mm langen Schweineembryo dar. Textfig. 11 liegt der Mittellinie etwas näher, geht durch die Kerne des Okulomotorius und Trochlearis und trifft die lateralsten Zellen des Facialis und des Glossopharyngeuskernes. Textfig. 10 liegt weiter lateral und trifft die lateralsten Zellen des Okulomotorius und des Abducens, die im Präparat schlecht gefärbt sind. In diesem Schnitt sind die Neuromeren 1—5 als flache Gruben am Boden der Rautengrube zu sehen. An der Oberfläche der Innenplatte erscheint die Nervenverteilung auf diesem Schnitte fast rein metamer. In Neuromer 2 sieht man eine dünne Lage von Nervenfasern, die dem Trigeminus zustreben, Fasern, die nicht dem klassischen dorsalen Trigeminskern entstammen können, sondern aus der primären motorischen Kernsäule kommen. Ferner sieht man in Neuromer 4 dicke Faserbündel des Facialis und in Neuromer 5 Faserzüge des Abducens, die sich der Oberfläche des Hirnrohres nähern und einzelne Zellen enthalten. Dabei muss ich betonen, dass die Abducensfasern streng auf Neuromer 5 beschränkt sind, und dass ich weder vorn noch hinten ausserhalb dieses Neuromers Abducensfasern sah. Nach hinten von diesem Neuromer ist eine Masse in den verschiedensten Richtungen verlaufender Fasern angeschnitten. Noch weiter hinten sieht man die beiden kontinuierlichen Reihen der zentrifugalen Vagus- und Hypoglossusfasern. Am Isthmus sind Trochlearisfasern und sie senkrecht kreuzende Fasern — vielleicht der Radix mesencephalica — zu sehen. Sucht man nun die Oberfläche der Innenplatte genauer ab, so bemerkt man ausser den beschriebenen rein metamer gelagerten zentrifugalen Fasern des Trigeminus, Facialis und Abducens noch andere quergetroffene Fasern. So liegt der vorderen Hälfte des dritten Neuromers eine Anzahl Bündelchen an, die sich dem Trigeminus lateralwärts anschliessen. Auch im sechsten Neuromer sieht man an der Oberfläche der Innenplatte eine Reihe schwarz gefärbter Fasern quer geschnitten. Es handelt sich hier um Fasern, die denselben Verlauf haben, wie die Primär-

fasern, die aus der primären motorischen Kernsäule stammen, und deren Typus die Facialisfasern darstellen. Es ist natürlich nicht möglich, jede dieser einzeln liegenden Fasern vom Kern bis zum Austritt mit Sicherheit zu verfolgen. Aber durch das Studium meiner in den verschiedensten Richtungen angelegten Serien halte ich mich für berechtigt, die Mehrzahl von ihnen für zentrifugale Fasern zu erklären, die aus der primären motorischen Säule stammen und sich dem Facialis anschliessen. Sie bilden dann jenes Bündel, das wir schon bei Besprechung der Horizontalschnittserien (Textfig. 7—9) kennen lernten und mit VII₅ bezeichnet haben. Man kann es auch in dieser Sagittalschnittserie verfolgen, wenn man die Serie von lateral nach medial durchgeht. Man sieht dann dorsal von der Hauptmasse des motorischen Facialis ein kleines, aber dichtes Bündel aus dem Hirnrohr von hinten her heraustreten, das sich durch seine dunkle Farbe scharf von den Fasern der Umgebung abhebt, obgleich diese eine wenig verschiedene Richtung haben. Auf jedem weiter medial gelegenen Schnitte rückt dieses Bündel etwas nach hinten und wird immer schwächer, bis man es in der Nähe des Glossopharyngeusgebietes — zwischen fünftem und sechstem Neuomer — nicht mehr verfolgen kann. Es wird das Bündel eben von einzelnen aus dem fünften und Anfang des sechsten Neuomers dorsolateralwärts ziehenden Fasern gebildet, die nach vorn umbiegen und immer mehr solcher Fasern aufnehmen. Erwähnen möchte ich, dass ich dieses Bündel, welches ich für den zentrifugalen Intermedius halte, zuerst an dieser Sagittalserie gefunden habe und seine Existenz erst später auf den Horizontalschnitten, wo es viel leichter verfolgbar ist, bestätigt habe.

Nun wollen wir in Textfig. 11 einen etwas weiter medial gelegenen Schnitt betrachten. Neuomer 2 bis 5 sind als Gruben sichtbar, wobei die Breite des vierten (Facialis-) Neuomers auffällt. Neuomer 6 ist an der Oberfläche der Innenplatte erkennbar. Der Schnitt liegt dicht medial von dem Abducenskern, so dass im Gebiete des fünften Neuomers von diesem Nerven nichts mehr zu sehen ist. Dagegen ist die primäre motorische Kernsäule in ihren lateralsten Teilen im Gebiete des vierten und sechsten Neuomers angeschnitten. Dass im Mittelhirn der Okulomotorius- und Trochleariskern getroffen ist, liegt daran, dass der Schnitt hier etwas weiter lateralwärts liegt. Punktiert ist ein Stück der

Kontur eines weiter medial gelegenen Schnittes angegeben, der, wie seine Nachbarn, zwei kleine Einsenkungen in der Gegend der Kerne des Okulomotorius und Trochlearis zeigt. Im Gebiete des zweiten und dritten Neuromers sieht man Primärfasern des Trigeminus. Im Gebiete des vierten Neuromers liegen die Primärfasern des Facialis zwischen den Neuroblasten und fallen daher nicht auf. Im Gebiete des fünften und sechsten Neuromers ist nun ein starkes Längsfasersystem angeschnitten, und das ist der Grund für die Auswahl dieses Schnittes. Dieses kurze Längsfasersystem entstammt der primären motorischen Kernsäule des fünften und sechsten Neuromers und liegt ihr lateral dicht an. Im Neuromer 6 sind schon in diesem Schnitte Neuroblasten zu sehen, die kranialwärts gerichtet sind und ihre Fortsätze in jenes Fasersystem senden, das nur im Gebiete der Neuromeren 4 bis 6 vorhanden und im Gebiete des fünften am stärksten ist. Es treten eben die meisten der aus der Kernsäule des fünften und

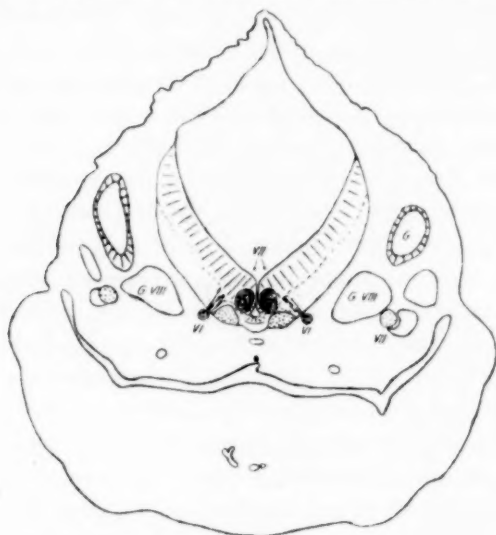


Fig. 12.

Querschnitt durch den Kopf eines Schweineembryo von ca. 14 mm.
Silberimprägnation.

sechsten Neuromers kommenden zentrifugalen Fasern nicht nach Art der Primärfasern aus, sondern ziehen längs der primären Kernsäule zwischen ihr und dem Abducenskern bis in das Gebiet

des vierten Neuromers, um sich hier dessen Primärfasern anzuschliessen und im Facialis auszutreten.

Zur näheren Bestimmung der Lage dieses Bündels gebe ich in Textfig. 12 einen Querschnitt durch einen etwa 14 mm langen Schweineembryo. Der Schnitt geht durch die vordere Hälfte der Gehörblase. Ausserhalb des Hirnrohres ist der Facialis und das Akustikusganglion angeschnitten. Man sieht jederseits medial vom Abducenskern, dessen Neuroblasten nicht gefärbt sind, dicht neben dem Sulcus medianus ein ovales Feld, das medial aus dicht stehenden Neuroblasten, lateral aus dicht gedrängten querschnittenen Nervenfasern besteht. Weiter rückwärts im Gebiete des sechsten Neuromers wird dieses Feld, das dort etwas kleiner ist, fast nur von Neuroblasten eingenommen, während weiter vorn im Gebiete des vierten Neuromers, wo die mächtigen Facialisbündel dorsolateralwärts ziehen, die laterale Fasermasse plötzlich aufhört. Damit ist es sicher erwiesen, dass es sich um eine Strecke der motorischen Facialiswurzel handelt, die nahe der Mittelebene und ihr parallel medial vom Abducenskern von hinten nach vorn zieht, plötzlich scharf umbiegt und nach der Austrittsstelle des Facialis zu zieht. Es hat also schon in den frühen embryonalen Stadien der Facialis die gleiche Verlaufsweise, die er ja auch beim Erwachsenen im inneren Knie zeigt.

Ich habe auch eine Anzahl älterer Embryonen mit Silber imprägniert und in Schnittserien zerlegt, ohne dass sich aus ihnen etwas Neues für die Nervenbeziehungen der Neuromeren ergeben hätte. Auch werden die Querschnitt- und Horizontalschnittserien wegen der sehr scharfen Brückenkrümmung ohne Modelle schwerer zu beurteilen, und nur die Sagittalschnitte sind einigermaßen brauchbar. Die motorischen Nerven und ihre Kerne treten immer mehr zurück, da sich die übrige Masse der Medulla oblongata stark vermehrt.

Da es sich aber in dieser Abhandlung hauptsächlich um die Neuromeren handelt, will ich die weitere Entwicklung der motorischen Nervenbahnen hier nicht behandeln und auch meine Ansicht über die retrograde Wanderung des Facialiskernes, wie sie in dem Keibel-Mallschen Handbuch von Streeter dargestellt ist, nicht aussprechen. Ich will vielmehr das, was wir über die Entwicklung der motorischen Hirnnerven und ihre Neuromerenbeziehungen gefunden haben, kurz zusammenfassen, um dann noch

einige Worte über das fernere morphologische Verhalten der Neuromeren und der Brückenkrümmungsfalte anzufügen.

Die motorischen Hirnnerven entstehen sehr frühzeitig aus der primären motorischen Kernsäule, einem kontinuierlichen, in seiner Mächtigkeit schwankenden, aber nicht deutlich segmentierten Strang von Neuroblasten, welcher ventral nahe der Mittellinie an der Oberfläche der Innenplatte liegt.

Zuerst entstehen die visceralmotorischen Nerven Facialis, Trigeminus, Vagus und Accessorius, die sogenannten Seitenhornnerven, deren Ursprungszellen primär am weitesten ventromedial liegen. Ihre Fasern, Primärfasern, ziehen von der primären motorischen Kernsäule dorsolateralwärts an der Oberfläche der Innenplatte hin, um etwas dorsal von der Austrittsstelle scharf umzubiegen und das Hirnrohr zu verlassen.

Wesentlich später entstehen der Reihe nach Hypoglossus, Okulomotorius, Trochlearis und Abducens, die somatisch-motorischen oder sogenannten Vorderhornnerven, deren Ursprungszellen anfangs dorsolateral von denen der erstgenannten liegen und dort, wo diese nicht vorhanden sind (Okulomotorius und Trochlearis), weiter von der Mittellinie entfernt sind, als man den visceralmotorischen Kern erwarten würde, wenn er vorhanden wäre.

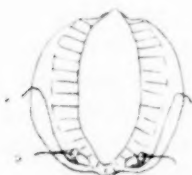


Fig. 13.



Fig. 14.

Fig. 13. Schema des Ursprungs der visceralmotorischen Nerven (v) in medial gelegenen Neuroblasten und der somatisch-motorischen (s) in lateral gelegenen Neuroblasten der primären motorischen Kernsäule.

Fig. 14. Schema des Faserverlaufes an ungefähr derselben Stelle wie Fig. 13 (gemischter Vago-accessorius-Hypoglossus-Kern) in einem älteren Stadium.

Wo beide Nervengattungen nebeneinander vorkommen, durchkreuzen sich ihre Fasern primär oder der visceralmotorische Nerv macht einen Umweg wie ein Teil des Facialis. Die Neuroblasten können sich in der Richtung ihrer Fasern verschieben, und so

kann sekundär der somatisch-motorische Nerven Kern ventralwärts rücken. Auch visceralmotorische Neuroblasten können sich in der Richtung der Fasern verschieben. Vielleicht entsteht auf diese Weise der klassische dorsale Trigeminskern. Noch später treten dorsale Kerne in der Nähe der Austrittsstelle der visceralmotorischen Nerven auf, die gleichfalls zentrifugale Fasern zu entsenden scheinen. Ob der klassische Trigeminskern und der von His jun. entdeckte accessorische Facialiskern aus diesen dorsalen Kernen entstammen oder in der vorher erwähnten Weise, ist fraglich.

Über die einzelnen Nerven ist folgendes zu sagen: der Trigenus bezieht ausser Fasern aus dem dorsalen Kern reichliche Primärfasern aus der motorischen Kernsäule im Gebiete des zweiten und dritten Neuromers; ob auch das Gebiet des ersten Neuromers beteiligt ist, war nicht zu entscheiden. Möglicherweise bezieht er auch zentrifugale Fasern aus einem mit Neuroblasten durchsetzten von vorn kommenden Längsstrang, der wahrscheinlich die Radix mesencephalica darstellt. Der Austritt des Trigenus erfolgt im zweiten Neuomer.

Der Facialis setzt sich aus drei verschiedenen Fasergruppen zusammen: 1. aus Primärfasern des vierten Neuromers; 2. aus Fasern eines kurzen, der primären Kernsäule des fünften, zum Teil auch des vierten und sechsten Neuromers lateral anliegenden Längsbündels, das seine Fasern aus der primären Kernsäule des sechsten und fünften Neuromers erhält und in der Gegend des vierten Neuromers scharf in die Richtung der Primärfasern umbiegt (inneres Knie des Facialis); 3. aus Primärfasern des fünften und Anfang des sechsten Neuromers, die sich zu einem dorsal vom eigentlichen Facialis austretenden Bündel sammeln (zentrifugaler Intermedius?). Der Austritt des Facialis erfolgt im vierten Neuomer.

Der Glossopharyngeus entsteht aus Primärfasern des sechsten Neuromers. In einem Falle wurde ein zwischen fünftem und sechstem Neuomer herauskommendes Bündel gefunden, das wenigstens zum Teil aus dem fünften Neuomer zu stammen schien und sich erst unterhalb des Gehörbläschens mit dem Glossopharyngeus vereinigte. Der Glossopharyngeus tritt im sechsten Neuomer aus.

Der Vagus entsteht aus Primärfasern des siebenten Neuromers und der folgenden Hirnstrecke. Der Accessorius ist im Ursprungsgebiet von ihm nicht zu unterscheiden.

Von den somatisch-motorischen Nerven haben Okulomotorius und Trochlearis keine Beziehungen zu den Neuromeren des Rautenhirns, höchstens könnte der Trochlearis zum ersten gehören, doch lässt sich hierüber noch nichts entscheiden, da die vordere Grenze des ersten Neuromers zurzeit noch nicht bestimmt ist.

Der Abducens war bei dem von mir untersuchten Material in Ursprung und Austritt streng auf das fünfte Neuromer beschränkt.

Der Hypoglossus hat seinen Ursprung in dem hinteren, unsegmentierten Hirnteile.

Im folgenden will ich noch den Modus des Verschwindens der Neuromeren beschreiben..

Für diesen Zweck habe ich eine ganze Anzahl von Schweineembryoköpfen in Celloidin eingebettet und in Sagittalschnittserien mit Richtlinien zerlegt. Von den acht geeignetsten Serien, Embryonen von 15, 17, 19 $\frac{1}{2}$, 22 $\frac{1}{2}$, 25, 30, 35 und 65 mm Länge, wurden Plattenmodelle in 33facher Vergrößerung hergestellt. Da aber die Brückenkrümmung in späteren Stadien so stark ist, und die Kleinhirnwülste sich weit über die Rautengrube nach hinten überneigen, ist der Einblick in die Rautengrube bei Modellen, die das Hirnrohr im Positiv wiedergeben, beschränkt, und es ist kein freier Überblick über die Neuromeren möglich. Daher entschloss ich mich, den Ventrikelhohlraum als Masse zu modellieren und zwar immer die linke Hälfte, so dass meine Modelle gewissermassen einen vergrößerten Ausguss des Ventrikels darstellen und zwar dessen linke Hälfte.¹⁾

Die Textfig. 15—18 sind Umrisszeichnungen nach Photographien der ersten vier Modelle von unten und der linken Seite und etwas von hinten gesehen. Dabei ist zu bemerken, dass auch der Sulcus medianus an den Stellen, wo er klafft, dargestellt ist, während dort, wo sich beide Seiten berühren, natürlich der Ausguss fehlt. Um die Bilder leichter verständlich zu machen, ist der Ausguss des Sulcus medianus schraffiert. Die Wellenlinien 1—7 deuten den Verlauf der Neuromeren in ihrer tiefsten Einsenkung an; die Linien laufen also über die Buckel und Grate

¹⁾ Ich habe auch von anderen Serien Ventrikelausgussmodelle hergestellt, doch möchte ich diese hier ausschalten, da sie zum Teil von silberimprägnierten Embryonen kommen, die doch beträchtlich schrumpfen und ihre Form verändern.

des Ausgusses. Dort, wo die Neuromeren am tiefsten, die Modellgrate also am höchsten und schmalsten sind, sind die Linien verdickt gezeichnet. Die gestrichelten Linien in den Textfig. 15 und 16 verbinden entsprechende Punkte der einzelnen Neuromerenlinien. Die gezähnten Linien in den Textfiguren deuten die Lage der Taenien an, an denen die Hirnwandung in die Tela chorioidea des vierten Ventrikels übergeht.

Betrachten wir zunächst einmal die allgemeinen Wachstumsverhältnisse: Beim Wachstum von Stadium 15 mm (Textfig. 15) auf Stadium 17 mm (Textfig. 16) haben alle Maße des Ausgusses ziemlich gleichmässig zugenommen. Die Brückenkrümmung ist im zweiten Bilde wenig stärker als im ersten. Der Rauminhalt des Ventrikels hat also bedeutend zugenommen und stellt in diesem Stadium ein erstes Maximum dar. Beim Fortschreiten zum Stadium 19 $\frac{1}{2}$ mm (Textfig. 17) nimmt die Brückenkrümmung so stark zu, dass der vordere Teil des Bodens der Rautengrube dem hinteren Teil im spitzen Winkel gegenüber steht. Dadurch wird der Rauminhalt der Rautengrube auf ein Minimum herabgedrückt, obgleich ihre Breite gewachsen ist. Dieses Minimum dauert aber nur kurze Zeit an; denn mit dem raschen Breiterwerden des Rhombencephalons wächst auch der Ausguss des Ventrikels, so dass bei Stadium 22 $\frac{1}{2}$ mm (Textfig. 18) das frühere Maximum schon wieder ungefähr erreicht ist. Ohne seine allgemeine Form nunmehr sehr stark zu verändern, nimmt der Ventrikel stetig an Raum zu, doch werden durch das mächtige Wachstum der Hirnmassen nicht nur die Neuromerenfalten, sondern bei Embryonen über 60 mm auch die der Brückenkrümmung im Lumen entsprechende Falte und zum Teil der Sulcus medianus ausgeglichen. Letztere beiden Falten verschwinden aber nicht wie die Neuromeren durch Seichterwerden, sondern durch Annäherung und Verschmelzung der Wände von unten her, bis die letzte Einsenkung der trichterförmigen Brückenfalte sich abflacht. Zu dieser Zeit ist auch ein weit ausladender und ventralwärts sich erstreckender Recessus lateralis vorhanden.

Zur Besprechung der Neuromeren kehren wir zum Stadium 15 mm (Textfig. 15) zurück. Hier und im nächsten Stadium ist im Verlauf der Neuromeren ein gewisser Parallelismus zu bemerken, der besonders auffällig wird, wenn man die Skizzen um 90° dreht, so dass die Modelle aufrecht stehen und ihre Längs-

achsen mit der des Beschauers gleichlaufen. Jedes Neuromer verläuft in einer mehrfach geschwungenen Wellenlinie, deren am meisten charakteristische Ausbuchtungen ich an korrespondierenden Punkten durch eine unterbrochene Linie verbunden habe. Ver-

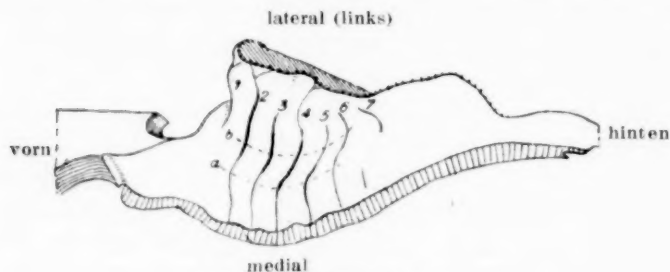


Fig. 15. Stadium 15 mm.

folgen wir die Neuromeren vom Sulcus medianus lateralwärts, so verlaufen sie zunächst eine Strecke mehr oder weniger gestreckt oder etwas nach hinten konvex. Dann folgt eine Konvexität nach vorn (Linie a), dann eine solche nach hinten und unten (Linie b), dann eine zweite flache Konvexität nach vorn und eine nach hinten, worauf bei Neuromer 1 noch eine dritte nach vorn kommt.

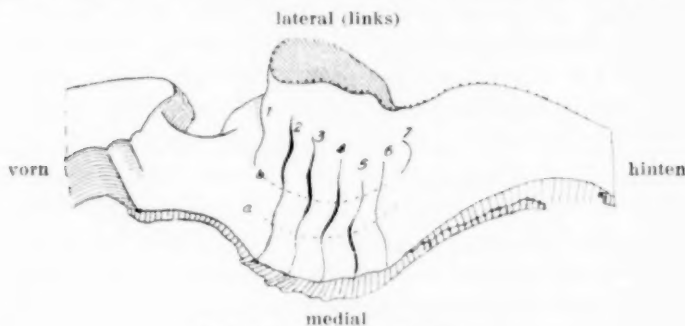


Fig. 16. Stadium 17 mm.

Beachten wir nun die Lage der tiefsten Einsenkung in jedem Neuromer bezw. der stärksten Vorwölbung des Ausgusses, die ich an den Skizzen durch Verstärkung der Linien dargestellt habe, so fällt sofort auf, dass diese nicht an korrespondierenden Stellen der Neuromeren liegt, sondern, wenn man von Neuromer 1 nach 5 vorschreitet, immer mehr medial rückt. Beim Stadium 15 mm ist das noch nicht so auffällig, wie bei Stadium 17 mm.

Hier liegt die stärkste Ausbuchtung des ersten Neuromers in der dritten Konvexität nach vorn, die des zweiten Neuromers zwischen dieser und der zweiten Konvexität nach vorn, die des dritten Neuromers in letzterer, die des vierten in Linie b und

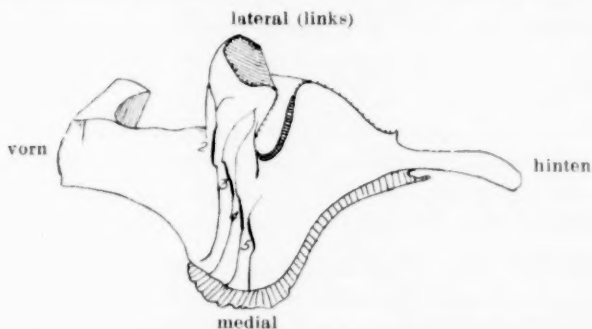


Fig. 17. Stadium $19\frac{1}{2}$ mm.

die des fünften in Linie a. Es ist also die grösste Ausbuchtung von Neuomer zu Neuomer gewissermassen um eine halbe Wellenlänge verschoben.

Der Grund für dieses gewiss eigenartige Verhalten wird bei Betrachtung der Textfig. 17 (Stadium $19\frac{1}{2}$ mm) ersichtlich.

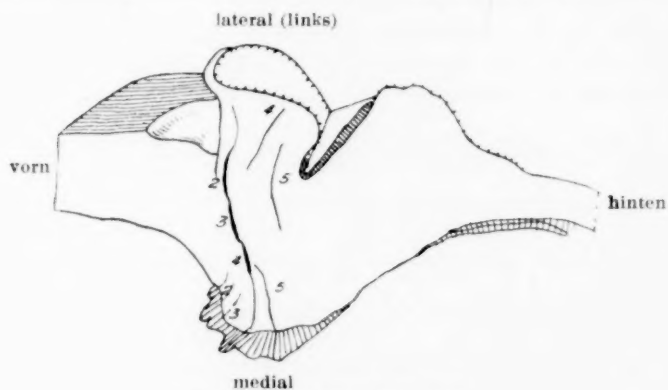


Fig. 18. Stadium $22\frac{1}{2}$ mm.

Durch die scharfe Brückenkrümmung sind die Neuomeren, während sie im übrigen recht abgeflacht sind, an den Stellen ihrer stärksten Ausbuchtung zu tiefen, schmalen Spalten geworden, die im Ausguss sich als scharfe Grate darstellen. Es haben sich nun von

den in der Figur dick ausgezogenen Graten das mediale Ende des vorderen und das laterale des nachfolgenden jedesmal einander genähert, und sie zeigen das Bestreben, sich zu einem gemeinsamen Grat zu vereinigen. Dass sie ursprünglich verschieden gerichteten Konvexitäten der Neuromeren angehörten, kann man noch daran erkennen, dass der Grat des zweiten und vierten Neuromers mehr in der Querrichtung, der des dritten und fünften etwas schräger steht.

In Textfig. 18 (Stadium $22\frac{1}{2}$ mm) ist der gemeinsame Grat einheitlich geworden, und nur an den geringen Hervorragungen kann man die Anteile der einzelnen Neuromeren erkennen.

Dieser Grat ist Ausguss der tiefen Furche, die durch die Brückenkrümmung am Boden der Rautengrube gebildet wird. Aus meiner Modellreihe geht also die überraschende Tatsache hervor, dass beim Schwein die Neuromeren 2, 3, 4 und — wenn auch weniger deutlich — die Neuromeren 1 und 5 sich an der Bildung der Brückenkrümmungsfurche beteiligen. Diese überkreuzt also die genannten Neuromeren. Man denke sich eine derartige Linie an einem jungen Embryo, an dem eben die Neuromeren aufgetreten sind, eingezeichnet, sie würde gegen die Längsachse nur wenig geneigt sein.

An den Textfig. 17 und 18 ist hinter dem Recessus lateralis eine am Modell vorhandene sehr tiefe Grube schraffiert angedeutet. Es ist dies die Stelle, wo sich der Rand des Rhombencephalons medialwärts umschlägt und die Taenie entsprechend verlagert.

(Abgeschlossen am 1. April 1913.)

Literaturverzeichnis.

- v. Baer: Entwicklungsgeschichte der Tiere, 1828.
Remak: Untersuchungen über die Entwicklung der Wirbeltiere, 1850.
Dursy: Entwicklungsgeschichte des Kopfes, 1869.
Dohrn: Der Ursprung der Wirbeltiere und das Prinzip des Funktionswechsels. Leipzig 1875.
Derselbe: Studien zur Urgeschichte. XV. Mitteil. d. Zool. Station Neapel, Bd. 9, 1890.
Mihalevics: Entwicklungsgeschichte des Gehirns. Leipzig 1877.
Béraneck: Recherches sur le développement des nerfs craniaux chez les lézards. Recueil zool. Suisse, 1884, Bd. 1.
Derselbe: Études sur les replis médullaires du poulet. Recueil zool. Suisse, 1887, Bd. IV.
C. Rabl: Bemerkungen über die Segmentation des Hirns. Zool. Anz., 1885.
v. Kupffer: Die Gastrulation an den meroblastischen Eiern. III. Arch. f. Anat., 1884.
Derselbe: Primäre Metamerie des Neuralrohres der Vertebraten. Sitz.-Ber. d. math.-phys. Kl., Akademie München 1885.
Orr: Embryology of the Lizard. Journ. of Morph., 1887.
Hoffmann: Metamerie des Nachhirns und Hinterhirns und ihre Beziehungen zu den segmentalen Kopfnerven bei Reptilienembryonen. Zool. Anz., 1889.
Platt: Studies on the primitive axial segmentation of the chick. Bull. Mus. comp. Zool., 1889, Bd. 17.
Prenant: Replis médullaires chez l'embryon du porc. Soc. de sc. de Nancy 1889.
Mc. Clure: Segmentation of the primitive Vertebrate brain. Journ. of Morph., Bd. IV, 1891.
Waters: Primitive segmentation of the Vertebrate brain. Quart. Journ. micr. Sc. 33.
Zimmermann: Über die Metamerie des Wirbeltierkopfes. Verhandl. d. Anat. Ges., 1891.
Froriep: Zur Frage der sogenannten Neuromerie. Verhandl. d. Anat. Ges., 1892.
Locy: Metameric segmentation in the medullary folds and embryonic rim. Anat. Anz., 1894.
Derselbe: Contribution to the structure and development of the Vertebrate head. Journ. of Morph., 1895.
Neal: The segmentation of the nervous system in *squalus acanthias*. Bull. Mus. comp. Zool., Bd. 31, 1897.
Derselbe: Summary of studies on the segmentation of the nervous system in *Squalus acanthias*. Anat. Anz., 1896, Bd. 12.
Darelllo: Descrizione di un embrione umano di mm 8, 6. Ricerche lab. d. anat. norm. Univ. Roma.
Hill: Developmental history of primary segments of the Vertebrate head. Zool. Jahrb., Anat. Abt., 1900.

- Neumeyer: Alte und neue Probleme der Entwicklung des Zentralnervensystems. Sitz.-Ber. d. Ges. Morph. u. Phys., München, H. 2.
- Lewis: The gross anatomy of a 12 mm Pig. Americ. Journ. of Anat., Vol. 2.
- Gage: A three weeks human embryo with especial reference to the brain and nephric system. Americ. Journ. of Anat., Vol. 4, 1905.
- Kollmann: Handatlas der Entwicklungsgeschichte, 1907.
- Tandler und Kantor: Zur Entwicklungsgeschichte des Geckogehirns. Anat. Hefte, Bd. 33, 1907.
- Elze: Beschreibung eines menschlichen Embryo von ca. 7 mm grösster Länge. Anat. Hefte, Bd. 35.
- Meek: The segments of the Vertebrate brain and head. Anat. Anz., Bd. 31.
- Derselbe: The Encephalomeres and cranial nerves of an embryo of *Acanthias vulgaris*. Anat. Anz., Bd. 34.
- Filatoff: Die Metamerie des Kopfes von *Emys lutaria*. Morph. Jahrb., Bd. 37.
- Streeter: Entwicklung des Nervensystems in Keibel und Mall, Handbuch der Entwicklungsgeschichte des Menschen.
- His, W.: Anatomie menschlicher Embryonen des 1. Monats, 1885.
- His, W. jun.: Zur Entwicklungsgeschichte des Akustico-Facialisgebietes. Arch. f. Anat., Supplementbd., 1889.
- His, W.: Die Entwicklung des menschlichen Rautenhirns. Leipzig 1891.
- Derselbe: Die Entwicklung des menschlichen Gehirns während der 1. Monate. Leipzig 1904.

Aus der Anatomischen Anstalt zu Tübingen.

Über die Entstehung der quergestreiften Muskelsubstanz bei der Forelle.

Beiträge zur Teilkörpertheorie II. ¹⁾

Von
Martin Heidenhain (Tübingen)

Hierzu Tafel XX—XXII.

Seit dem Jahre 1899 bin ich mit einer Reihe von Arbeiten über den quergestreiften Muskel hervorgetreten, welche den Zweck verfolgten, zu zeigen, dass die genaue Untersuchung dieses Objektes von hervorragender Bedeutung für die Plasmalehre ist. Meine letzte Bearbeitung des Gegenstandes, welche in dem zweiten Bande von „Plasma und Zelle“ enthalten ist, gibt das vorläufige Resultat jahrzehntelanger Bestrebungen und kann mit Fug und Recht als eine völlige Neudarstellung der Muskellehre auf veränderter Basis gelten.

Den Ausgang aller meiner Untersuchungen bildete die Erkenntnis, dass im Muskel die kontraktile Substanz, das spezifische Muskelprotoplasma, streng nach den Dimensionen des Raumes orientiert ist, entsprechend der rein dimensionalen Funktion des Muskels, und dass demzufolge bei einem solchen Objekte auch die allgemeinen Formen der Organisation und des Wachstums leichter verfolgbar sein müssten. In dieser meiner Auffassung der Dinge habe ich mich nicht beirren lassen, obwohl vielleicht bis zum heutigen Tage noch einige Gelehrte daran festhalten, dass die kontraktile Masse des Muskels das Resultat einer ganz besonderen Umsetzung des Zellplasmas sei. Jedoch dies ist nicht der Fall, denn an der kontraktilen Substanz sind alle allgemeinen Eigenschaften des Plasmas nachweisbar, nämlich ausser der Kontraktilität die Erregbarkeit, die Leitungsfähigkeit, die Atmung bzw. die Vorgänge der Oxydation verbunden mit Wärmebildung, der Umsatz potentieller in kinetische Energie, sowie schliesslich auch die Form der Vermehrung der spezifischen Strukturelemente

¹⁾ Mit Unterstützung der Königl. Württembergischen Staatsregierung und der Königl. Preussischen Akademie der Wissenschaften zu Berlin. (Der erste Beitrag bezieht sich auf die Darmzotten. Siehe Anat. Anz., Bd. 40, 1911.)

durch Teilung, letzteres ähnlich wie bei den Chromosomen, den Zentren etc.

Infolge der dimensionalen Orientierung des Muskelprotoplasmas lassen sich hier nun gerade die Form, das Wachstum und die Vermehrung der lebendigen Substanz in sehr genauer Weise eruieren. Dies ist der Grund, warum ich den Gegenstand auch weiterhin nicht ausser acht gelassen habe und zur Bestätigung der früheren Resultate mit neuen Mitteilungen über die Entwicklung der Muskelfibrillen bei der Forelle hervortrete.¹⁾ Meine Untersuchungen gehen in diesem Falle von den älteren Arbeiten Maurers aus, welcher 1894 und später (siehe die Literatur in „Plasma und Zelle“) den Nachweis führte, dass bei den Cyprioiden die gesamten Fibrillen der Muskelfaser aus der Teilung einer erstmals angelegten Einzelfibrille hervorgehen. Hierbei beobachtete er, wie die ersten Teilprodukte der Mutterfibrille sich zu einer hohlen Röhre zusammenlegen, welche durch weitere Fibrillenspaltung allmählich an Querschnitt gewinnt; erst später erscheinen auch im Inneren der Röhre Fibrillen, wodurch mit der Zeit ein solides Bündel entsteht.

Alle diese Momente der Entwicklung wiederholen sich in der nämlichen Weise bei der Entstehung der Muskulatur der Forelle, so dass meine Untersuchungen die Ergebnisse Maurers in den Grundzügen bestätigen. Es hat sich jedoch weiterhin gezeigt, dass das von mir gewählte Objekt bei einer Bearbeitung im Sinne der Plasmalehre über die ursprünglichen Beobachtungen Maurers hinaus eine Reihe wertvoller Daten liefert, welche theoretisch von hohem Interesse sind. Um die in Betracht kommenden Probleme näher zu charakterisieren, erlaube ich mir meine bisherigen die Fibrillenstruktur des Muskels betreffenden Ergebnisse, welche sich auf meine vorausgegangenen früheren Untersuchungen sowie auf die Durchsicht fast der gesamten Literatur stützen, in der nachfolgenden Aufrechnung kurz zu rekapitulieren

¹⁾ Die vorliegende Arbeit war schon Ende 1911 samt den Abbildungen fertiggestellt. Die Publikation ist bisher unterblieben, weil ich hoffte, dass die theoretische Fassung des Tatsachenmaterials sich noch präziser würde gestalten lassen. Vergleiche auch den Demonstrationsbericht in den Verhandl. der Anat. Ges. von 1911 Seite 217. Den wesentlichen Inhalt meiner Arbeit habe ich ferner bereits auf dem Anatomen-Kongress zu München 1912 mitgeteilt.

(vergl. die Darstellung in „Plasma und Zelle“, besonders auch S. 640 ff.).

1. Bei der Beobachtung in situ zeigt sich, dass die histologischen oder besser: empirischen Fibrillen, das sind diejenigen kleinsten Längselemente, welche optisch kontrollierbar sind und in sich nicht weiter auflösbar, also homogen erscheinen, eine sehr verschiedene Dicke und eine sehr verschiedene Querschnittsform besitzen. Die Muskelfaser der Wirbeltiere zeigt meist feinere, die der Insekten meist gröbere Fibrillen. Doch wechseln Kaliber und Querschnittsform auch innerhalb derselben Faser oft in erheblichem Grade. Diese Eigenschaften weisen darauf hin, dass die empirischen Fibrillen in Wahrheit keineswegs einfache, schlechthin „elementare“ Fäserchen, sondern etwas in verschiedenen Verhältnissen Zusammengesetztes sind.

2. Bei manchen Geschöpfen, besonders den Insekten, findet man in den Muskelp primitivbündeln als kontraktile Bestandteile homogene faserförmige Gebilde von bedeutender Breite, welche bei den einen Objekten rundlich, bei anderen flach bandförmig gestaltet und radiär gestellt sind. Da diese Gebilde der Grössenordnung nach sich in auffallender Weise von den gewöhnlich vorkommenden feineren Muskelfibrillen unterscheiden, so hat man sie als „Säulchen“ bezeichnet (Flügelmuskulatur der Insekten), um der Tatsache Ausdruck zu geben, dass sie dem Querschnitte nach den Fibrillenbündeln oder Säulchen anderer Objekte gleichkommen. Diese Namensgebung ist in gewissem Grade berechtigt, doch ist zu berücksichtigen, dass der Natur der Sache nach zwischen den feineren im engeren Sinne sogenannten Fibrillen und den gröberen homogenen Fasern oder Säulchen der Autoren ein unmerklicher Übergang statthat. Auf jeden Fall erhellt aus diesen Tatsachen, dass der Begriff der Fibrille relativer Natur ist und keineswegs in absoluter Weise einen bestimmten Elementarbestandteil der kontraktile Masse charakterisiert.

3. Die Muskelfibrillen feinsten Art, z. B. bei Säugern, zeigen einen Durchmesser von ca. $0,2-0,25\ \mu$. Dies ist kein objektiver Wert, vielmehr bedeutet er nur den unteren mikroskopischen Grenzwert der Unterscheidbarkeit der Dimensionen (M. Heidenhain). Es könnten wohl noch feinere Fibrillen in den Muskelfasern wirklich vorkommen, jedoch würden solche Fibrillen auch von unseren besten Systemen immer

nur in der Dicke des Grenzwertes von $0,2-0,25\ \mu$, also in Zerstreuungskreisen, abgebildet werden.

4. Der Versuch der manuellen Aufspaltung der gröberen Fibrillen gelingt meist leicht und führt bestenfalls zu Spaltungsprodukten von ausserordentlicher Feinheit; jedoch kann man auf diese Weise naturgemäss immer nur bis zu dem eben bezeichneten Grenzwerte von $0,2-0,25\ \mu$ gelangen.

5. Aus den Muskelfibrillen gehen durch sukzessive Längsteilung bzw. durch Assimilation, Wachstum und innere Sonderung Fibrillenbündel hervor, das sind die „Säulchen“ der gewöhnlichen Terminologie. Letztere wiederum gliedern sich bei einigen besonders lehrreichen Objekten unter Vermehrung ihrer Längselemente in deutliche Säulchengruppen, wobei jedes erstmals vorhandene Säulchen, indem es entsprechenden Umfang gewinnt, allmählich in ein zusammengesetztes Säulchen oberer Ordnung übergeht usf. Auf diese Weise entwickeln sich die von mir so genannten Schachtelsysteme mit Säulchen primärer, sekundärer, tertiärer Ordnung usf.

6. Die morphologischen Tatsachen sowohl wie die eben berührten entwicklungsgeschichtlichen Erfahrungen sprechen dafür, dass die empirischen Fibrillen eine „metafibrilläre“ Struktur besitzen, d. h. dass sie in Wahrheit Bündel noch feinerer Fibrillen sind, deren Abstände durch das Mikroskop nicht mehr zur Erscheinung gebracht werden. Eventuell könnte der Querschnitt der histologischen oder empirischen Fibrille in seinem metamikroskopischen Gefüge von gleicher Qualität sein, wie der Querschnitt des Primitivbündels (M. Heidenhain, 1899).

7. Die empirischen Fibrillen verschiedenen Kalibers und die Säulchen der verschiedenen Ordnungen lassen sich in eine aufsteigende natürliche Reihe zusammensetzen, deren einzelne Glieder sämtlich als Histomeren oder Teilkörper angesehen werden können. Derartige Reihen, die auch bei gänzlich anders gearteten Objekten der mikroskopischen Anatomie sich nachweisen lassen, nenne ich *homologe* oder *homöotypische* Reihen, weil die höheren Glieder solcher Reihen sich aus feineren Bestandteilen zusammensetzen, die untereinander von gleicher Art oder einander homolog sind. In diesen Reihenbildungen kommt der natürliche Gang der Entwicklung sowohl wie die Struktur der fertigen Gebilde zum deutlichen Ausdruck.

8. Eine derartige homologe Reihe ändert an keiner Stelle ihres Verlaufes sprungweise ihren Charakter. Der Beginn der Reihe der Fibrillen und Säulchen liegt praktisch bei einem Anfangsgliede, welches dem Kaliber nach genau dem Grenzwerte der Leistungsfähigkeit unserer besten Linsen entspricht. Theoretisch müssen wir schliessen, dass die Reihe, wenn wir ihr in der Richtung der abnehmenden Grössen folgen, ohne Änderung ihres Charakters auf das metamikroskopische Gebiet übergeht und dass ihr wahrer Anfang bei einem Querschnittselemente oder Teilkörper letzter Ordnung liegt, welcher identisch ist mit jenen „kleinsten lebenden Teilen“, von denen in der gesamten Biologie so häufig die Rede gewesen ist.

Diese Teilkörper letzter Ordnung, von denen wir annehmen können, dass sie sich in der Längenrichtung der Faser in irgend einer Art zu „Metafibrillen“ anordnen, haben wir unsererseits als „Protomeren“ bezeichnet (zuerst in „Plasma und Zelle“, Bd. I, S. 99).

Die besprochene Reihenbildung gestattet demgemäss den Übergang zu einer Theorie der Elementarorganisation der quergestreiften Masse. Dieses Ergebnis ist von allgemeinem Interesse, da Reihenbildungen ähnlicher Art auch bei anderen Objekten der Histologie auftreten und zwar auf dem Gebiete der Zellen- und Plasmalehre sowohl wie auf dem Gebiete der zusammengesetzten vielzelligen Organe (vergl. M. Heidenhain, Über Zwillings-, Drillings- und Vierlingsbildungen der Dünndarmzotten etc., Anat. Anz., Bd. 40, 1911; mein Referat zu München 1912 gab eine vorläufige Übersicht über die Theorie der Reihen).

9. Die kleinsten Lebenseinheiten oder Protomeren (Plasomen bei Wiesner) sind durch die Eigenschaft der spontanen Teilungsfähigkeit einstweilen genügend charakterisiert. Nehmen wir an, dass wir die Protomeren auf irgend eine Weise, auf physikalischem oder chemischem Wege, noch weiterhin zerlegen könnten, so würden die Teilstücke nur noch Trümmer des Protoplasmas sein. Wir rechnen somit die spontane Teilungsfähigkeit zu den primitiven Lebenseigenschaften und behaupten (mit Wiesner), dass dieselbe in der lebendigen Substanz eine untere Grenze haben müsse, welche bei den kleinsten Lebenseinheiten liegt.

In obigem haben wir betreffs der kontraktile Masse diejenigen Folgerungen näher berücksichtigt, welche für unseren

gegenwärtigen Zweck näher in Betracht kommen. Die ausführliche Begründung haben wir a. a. O. gegeben (Plasma und Zelle, besonders S. 577--596, S. 640--658). Wir halten es nun für zweckmässig, wenn der Leser, nachdem seiner Aufmerksamkeit durch unsere theoretische Einleitung eine gewisse allgemeine Richtung erteilt worden ist, von dem speziellen Inhalte derselben zunächst gänzlich abstrahiert und einstweilen das in nachfolgendem vorgelegte empirische Material in allen seinen Einzelheiten zu erfassen und zu würdigen versucht. Nach unserer Meinung ist es nämlich möglich, unsere gesamte theoretische Auffassung der kontraktilen Substanz aus diesem Materiale von neuem in einwandfreier Weise abzuleiten.

Technik.

Ich benutzte ausschliesslich Serien durch junge Forellenlarven, welche mit Trichloressigsäure fixiert und mit Eisenhämatoxylin gefärbt wurden. Das Sarkoplasma zeigte sich nicht hinreichend gut konserviert, aber die Präparate hatten den Vorzug, dass die kontraktile Substanz sich durch eine sorgfältig geleitete Differenzierung in ausgezeichneter Weise zur Anschauung bringen liess, was in gleicher Weise für Längs- und Querschnitte Geltung hatte. In vorliegender Abhandlung bespreche ich jedoch nur die Querschnittsbilder, da die Längsansichten keine neuen Resultate ergeben haben, auch für meinen gegenwärtigen Zweck weniger ergiebig sind.¹⁾ Leider stellte es sich heraus, dass durch den Druck des Messers beim Schneiden die Präparate oft mehr oder weniger beschädigt werden, so dass zur Erforschung der feineren und feinsten Strukturverhältnisse die benutzbaren Schnitte der Serien sehr gut ausgesucht werden mussten. Bei bestmöglicher Erhaltung der gegenseitigen Lagerung der Querschnittselemente kommen jedoch ungemein feine Bilder zum Vorschein, welche die Anwendung der höchsten Vergrösserungen gestatten, so dass

¹⁾ Nach jahrelangen Erfahrungen kann ich versichern, dass die Trichloressigsäure für die Muskelfibrillen und deren Querstreifung ein ganz vorzügliches Konservierungsmittel ist. Daher zeigten sich auch an den Längsschnittbildern der Forellenlarven in sehr schöner Weise die ungestreiften wachsenden Enden der Muskelfasern, wie ich sie vom Triton in „Plasma und Zelle“ II, S. 666, abgebildet habe. Über „Die Trichloressigsäure als Fixierungsmittel“ siehe meinen Artikel in der Zeitschr. f. wiss. Mikr., Bd XXII, 1905, S. 321--324.

es möglich war, die Mehrzahl der Abbildungen bei einer Vergrößerung von 3800 anzufertigen. Dies war nötig, weil die der Arbeit beigegebenen Zeichnungen einen leichten Überblick über den behandelten Gegenstand erlauben sollten und der Leser nicht gezwungen werden darf, die Figuren mit Mühe durchzuarbeiten. Im übrigen hat Herr H. Dettelbacher, Universitätszeichner hierselbst, die Zeichnungen zu meiner völligen Zufriedenheit, sehr geschickt und genau ausgeführt.

Beobachtungen.

Wir beginnen die Betrachtung mit einem mittleren Entwicklungsstadium, wie es Fig. 11 a und b, Taf. XX, zeigt. Das Gesichtsfeld, welches diese Stelle enthält, wurde auf der Anatomenversammlung zu Leipzig (1911) demonstriert. Man gewahrt in dieser Figur die Querschnitte zweier breiter und einer schmalen Faser (letztere bei c). Besonders die ersten beiden lassen in prachtvoller Weise die von Maurer erwähnten in Röhrenform zusammengeordneten kontraktile Längselemente erkennen. Diese treten in unserem Falle unter dem Bilde radial gestellter Bänder auf, welche der Größenordnung nach zweifellos in die Kategorie der Muskelsäulchen hinein gehören, obwohl sie homogen aussehen. Da sie Maurer bei seinem Objekte als Fibrillen bezeichnen konnte, so erkennt man hier wiederum, dass der Begriff der Muskelfibrille relativer Natur ist. Es gibt eben Objekte, bei denen die zuerst angelegten feinen Fibrillen allmählich an Umfang zunehmen und sich zu derben kontraktile Fasern entwickeln, welche mikroskopisch immer noch homogen erscheinen; diese werden dann, wie oben schon erwähnt, von den Autoren als Säulchen bezeichnet, weil sie der Größenordnung nach den Fibrillenbündeln anderer Objekte entsprechen. Im übrigen ist bekannt, dass bei Wirbeltieren und Wirbellosen radial gestellte Fibrillenplatten ein überaus häufiges Vorkommen sind. Meiner Erinnerung nach habe ich bei unserem Objekte gelegentlich Andeutungen einer fibrillären Struktur der radialen Platten gesehen.

Überschaut man unsere Abbildungen etwa von Fig. 5 an, so überzeugt man sich leicht, dass die radial gestellten Säulchen sich durch Spaltung vermehren, wodurch die Muskelzylinder allmählich an Querschnitt zunehmen; dabei wachsen die Säulchen gleichzeitig in radialer Richtung, so dass sie, im An-

fange wenigstens, sich erheblich verbreitern und bald in die Gestalt flacher Bänder übergehen, während ihre Dicke ziemlich konstant bleibt (Taf. XXI). Es ist also durch unsere Beobachtungen erwiesen, dass diese Art von Säulchen Teilkörper oder Histomeren einer niederen Ordnung sind.

Die genaue Durchmusterung der Präparate zeigt sofort alle möglichen Teilungsformen der radialen Bänder. Ihre Spaltung beginnt naturgemäss peripherwärts in der äusseren Mantelfläche der kontraktiven Röhre und schreitet von dort in der Richtung nach einwärts fort. Diese Form der Spaltung erklärt sich leicht aus den gegebenen Raumverhältnissen (vergl. die Abbildungen). Denn während der Entwicklung nimmt der äussere Umfang des kontraktiven Ringes in relativ stärkerem Grade zu als der innere. Daher haben in der Richtung nach aussen mehr radiale Platten nebeneinander Platz als in der Richtung nach innen und so sieht man viele derselben peripherwärts sich teilen. Nur in äusserst seltenen Fällen findet man (Fig. 10 links), dass die Spaltung umgekehrt, von innen nach aussen, geht. Es kann dies nur vorkommen, wenn die innere Lichtung der kontraktiven Röhre nicht rundlich, sondern stark abgeplattet ist und demzufolge die gegebenen Raumverhältnisse nicht mehr die typischen sind.

Aus der Vergleichung vieler Teilungsbilder geht sehr deutlich hervor, dass die Spaltungen anfangs schneller, später langsamer vorwärts schreiten, so dass viele auf dem Querschnitte Y- oder V-förmige Kombinationen der Bänder auftreten, welche sicherlich wenigstens zum Teil von längerem Bestande sind. Denn es ist ganz offenbar, dass viele dieser Figuren in radialer Richtung niemals völlig durchgespalten werden, so dass eine zweite, eine dritte, ja selbst eine vierte Teilung von der Peripherie her beginnen kann, ohne dass die erste vollendet ist. Unsere Figuren zeigen sehr mannigfache Beispiele dieser Art. Auf diese Weise bilden sich Säulchenkombinationen höherer Ordnung, welche mehrfach verästigte Querschnittsfiguren liefern. Zwei-, drei-, vierteilige Figuren sind häufig, noch höhere Kombinationen selten.

Die Fibrillen, Säulchen und Säulchenkombinationen lassen sich in eine vom Feineren zum Gröberen aufsteigende natürliche Reihe ordnen, welche nach unserer Ausdrucksweise als eine homologe oder homöotypische Reihe zu bezeichnen ist. Die sämtlichen Glieder dieser Reihe sind Histomeren, welche der weiteren Teilung

oder Aufspaltung in irgend einer Weise fähig sind. Die späteren Glieder der Reihe verhalten sich zu den früheren wie Systeme zusammengesetzter Art zu den einfachen Bildungen gleicher Qualität, aus deren Kombination sie hervorgingen. Das Mittel der Kombination ist der Vorgang der unvollkommenen Spaltung. Ausser den einfachen Fibrillen und Säulchen, die eventuell dem Kaliber nach geordnet in den Anfang der Reihe zu setzen wären, kommen unter den dickeren Fasern zwei-, drei-, vier- bis achtmal eingespaltene Säulchen vor (siehe Fig. 13 links unten), welche von relativ längerer Dauer sind und in gleicher Ordnung das Ende der Reihe bilden würden. Diese in sich gespaltenen Säulchensysteme sind nun freilich bei der Forelle blosser Entwicklungszustände und demgemäss schliesslich doch nur von vorübergehender Art. Allein es wäre sehr wohl möglich, dass die gleichen Formen gelegentlich auch als definitive Strukturen vorkommen. Beispielsweise ist bei den Insekten der radiäre Bau der Muskelfasern etwas ganz Gewöhnliches; auch Gruppierungen mit radial gestellten bandartigen Muskelsäulchen kommen in diesem Kreise häufig vor, z. B. bei der Libelle nach Holmgren. Es liegt daher die Möglichkeit vor, dass bei Objekten dieser Art zusammengesetzte Säulchensysteme auffindbar sein werden.¹⁾ Bei der Forelle hingegen schwinden schliesslich die beschriebenen komplexen Säulchenbildungen wiederum, indem der Zusammenhang der Tochterplatten durch Abspaltung längs der inneren Kante des Systems aufgehoben wird. Es mag daher auffallend erscheinen, wenn wir auf das vorübergehende Vorkommen der kombinierten Säulchensysteme so viel Wert legen; jedoch geht eben unsere Meinung dahin, dass wir in diesem Falle eine entwicklungsphysiologische Erscheinung von typischer Art vor uns haben. Denn die Natur bedient sich überall, in allen Ordnungen der Histomeren (unter anderem) des Mittels der unvollkommenen Teilung, um dadurch zu komplexen Formwerten von höherer Ordnung zu kommen. Diese Vorgänge spielen sich freilich unter sehr verschiedenen Bildern ab. Wenn z. B. eine Zelle zu mehreren Malen hintereinander die mitotischen — oder amitotischen — Veränderungen erleidet, ohne dass es zu äusseren Teilungen kommt, so entstehen dadurch typische Formen

¹⁾ Seitdem dieses niedergeschrieben wurde, habe ich die Thoraxmuskulatur der Libelle näher untersucht und werde darüber später berichten.

von höherer Ordnung, z. B. Megakaryozyten, Ostoklasten, Muskelfasern usw. Letztere sind die „höheren Homologen“ der einfachen Formwerte, aus denen sie hervorgingen.

Nach dieser theoretischen Abschweifung kehren wir nunmehr zur Betrachtung unseres Objektes zurück. Nachdem die in Fig. 5—11 sichtbaren Muskelzylinder eine Zeitlang stetig gewachsen sind, lenkt der Entwicklungsprozess in eine andere Richtung ein. Der innere Hohlraum beginnt sich (früher oder später) mit Fibrillen bzw. Säulchen zu füllen, welche vom inneren Rande der Bänder und Bandsysteme her abgespalten werden (Fig. 12—15, Taf. XXI und XXII). Die abgespaltenen Teile zeigen in meinen Präparaten äusserst unregelmässige Querschnittsfiguren. Man findet teils sehr feine Fibrillen, teils alle Übergänge zu gröberen Fasern, welche nach der üblichen Anschauung in die Grössenordnung der Säulchen hineinfallen würden. Man findet ferner der Form nach rundliche, eckige, bandartige und besonders auch winkelförmige Querschnitte. Letztere sind nichts anderes als die von den beschriebenen Säulchensystemen abgespaltenen inneren Winkel, durch deren Abtrennung die bis dahin zusammenhängenden Tochtersäulchen voneinander isoliert werden. Jedenfalls zeigt sich auch hier wiederum, dass die histologischen oder „empirischen“ Fibrillen keineswegs bestimmte Querschnittselemente sind, sondern dass sie als Bildungen vorgestellt werden müssen, welche in verschiedenen Verhältnissen zusammengesetzt sind. Daher muss ihnen eine „metafibrilläre“ Struktur zuerkannt werden, wie ich dies seit 1899 vielfach dargelegt habe.

Durchmustert man unsere Abbildungen (Fig. 12 ff.), so bemerkt man, dass die nach einwärts abgegliederten Produkte der Spaltung vielfach noch durch Fäden mit den Randsäulchen zusammenhängen. Auf diese Weise wird der ursprüngliche Verband der Teile unschwer erkennbar und man gewahrt, dass gelegentlich die inneren Säulchen und die radialen Platten der Peripherie einander reihenweise gegenüberstehen (z. B. in Fig. 14 oben). Diese Verhältnisse einer regelmässigen Zusammenordnung würden wahrscheinlich bei absoluter Erhaltung der Topographie der Teile (oder bei günstigeren Objekten) noch besser zum Vorschein kommen. Im einzelnen mache ich noch darauf aufmerksam, dass gelegentlich auch die inneren winkelförmigen Säulchen mit den ihnen ursprünglich zugehörigen der Peripherie in losem Zusammenhange gefunden werden.

Die Entwicklung der Muskelfaser schreitet in der Folgezeit in gleichem Sinne weiter fort. Die im Inneren des Muskelzylinders gelegenen Fibrillen und Säulchen nehmen an Zahl immer mehr zu, und zwar teils durch Selbstteilung, teils durch fortgesetzte Abspaltung von der Peripherie her. Dadurch werden die bandförmigen Säulchen der Rindenschicht allmählich immer kleiner; ob sie nun in dieser Form gänzlich verschwinden oder sich Reste davon für die Dauer erhalten, kann ich nach dem mir vorliegenden Materiale einstweilen nicht beurteilen.

Noch zwei Umstände verdienen Erwähnung. Erstlich finde ich lateralwärts unter der Körperoberfläche des Tieres eine Schicht von Muskelfasern, bei welcher das Stadium der Hohlzylinder nicht vorkommt. Die Fasern werden an dieser Stelle vielmehr von vornherein solide angelegt. Zweitens finde ich zahlreiche Fasern, bei denen der Ring der radialen Säulchen an einer oder mehreren Stellen nach einwärts eingebrochen ist (Fig. 16, ebenso in Fig. 14 und 15). Die der Unterbrechungsstelle benachbarten Enden des Ringes pflegen sich in der Richtung nach einwärts umzubiegen, so dass der Querschnitt der Faser nach einiger Zeit an Stelle eines kontraktilen Ringes bandartige, an den Enden umgerollte, spiralförmige oder wurmartige Figuren aufweist. Auf diese Weise kommt eine in den einzelnen Fällen wechselnde, besondere Zerklüftung der Fasermasse zustande (Fig. 16). Anordnungen, welche sehr lebhaft an die Abbildungen erinnern, welche Rollett von den Muskeln des Seepferdchens gegeben hat (siehe „Plasma und Zelle“ II, S. 629).

Diese Art der Zerteilung der Hohlzylinder ist sicherlich eine gelegentliche Folge der Druckspannung, welche durch die fortgesetzte Spaltung der radial gestellten, bandförmigen Säulchen erzeugt wird. Im übrigen haben diese Vorgänge keinerlei prinzipielle Bedeutung, vielmehr sind sie lediglich als belanglose Übergangszustände aufzufassen, welche auf den Endeffekt der Entwicklung keinerlei Einfluss haben.

Wir gehen nunmehr auf die frühesten Stadien der Entwicklung zurück und erheben die Frage, wie jene ringförmigen Anordnungen der Säulchen entstehen, die wir in vorstehendem ausführlich besprochen haben. Hierbei kommen wir auf sehr

feine Verhältnisse der Struktur und es ist dringend notwendig, dass wir uns zuvor davon Rechenschaft geben, wie sich die Verhältnisse des mikroskopischen Bildes an der Grenze der optischen Leistungsfähigkeit des Instrumentes gestalten werden. Wie von mir zu wiederholten Malen (seit 1899) in verschiedenen Schriften hervorgehoben wurde, liegt die untere Grenze für die Unterscheidbarkeit der Dimensionen bei $0,2-0,25 \mu$. Prüfen wir daraufhin unsere Abbildungen, welche (mit Ausnahme der Fig. 16) bei einer Vergrößerung von 3833 (Zeiss 2 mm, Ok. Nr. 18) mittelst des Abbeschen Apparates aufgenommen wurden, so bedeutet für diese der Millimeter der Zeichnung eine Ausdehnung von $0,263 \mu$. Wir stehen mithin bei dieser Vergrößerung nahe an jener Grenze, wo die Ausmessungen der mikroskopischen Dinge und ihre Abstände noch einigermaßen richtig wahrgenommen werden. Die mikroskopischen Strukturen treten bei einer so hohen Vergrößerung, selbst wenn sie äusserst scharf ausgefärbt sind, in Zerstreuungskreisen auf; dies pflegt die photographische Platte mit rücksichtsloser Treue zu zeigen. Es ist jedoch eine praktische Erfahrung der Mikroskopie, dass unser Auge die Konturen schärfer aufzufassen pflegt als sie wirklich sind, ein Umstand, der nach meiner Meinung eine besondere Begründung in der Physiologie der Gesichtswahrnehmungen haben muss. Jedoch unser Auge vermag in Wahrheit die objektive Leistung des Mikroskops nicht zu verbessern. Werden daher die Abstände der Fibrillen (Säulchen) geringer als $0,2 \mu$, so fangen die Zerstreuungskreise, welche von benachbarten Strukturelementen ausgehen, an, sich zu decken. Die Strukturen erscheinen nun nicht mehr auf klarem, sondern auf gefärbtem Grunde. Oder wir können auch sagen: Je mehr sich nach abwärts von der kritischen Grenze die Strukturelemente einander nähern, desto weniger Licht dringt zwischen ihnen hindurch, desto mehr verschmelzen sie miteinander. Wenn wir also beispielsweise auf einer Strecke von $0,5 \mu$ zwei scharf gefärbte Körper von $0,2 \mu$ Durchmesser haben, so wird die optische Trennung der letzteren bereits erheblich erschwert sein. Sind die beiden gedachten Körper von rundem Querschnitte, so liegt immerhin der günstigste Fall vor; denn seitlich von der Verbindungslinie ihrer beiden Mittelpunkte erweitert sich ihr Abstand sofort in bedeutendem Grade. Daher werden kugelförmige Gebilde, z. B. Zentriolen, selbst bei sehr starker Annäherung, von

uns immerhin noch gut erkannt und voneinander getrennt. — Nach diesen Vorbemerkungen können wir zur Betrachtung unseres Objektes übergehen.

Die gesamte fibrilläre Masse der Muskelfaser leitet sich bei der Forelle, wie dies Maurer zuerst für die Knochenfische gezeigt hat, von einer einzigen Fibrille ab, welche im Sarkoplasma der embryonalen Faser neben dem Kern in die Erscheinung tritt (Fig. 1a, rechts neben dem Kern). Da die in Röhrenform angeordneten Säulchen der späteren Stadien ein Differenzierungsprodukt dieser Fibrille sind, so versteht sich leicht, dass im vorliegenden Falle die Muskelkerne immer ausserhalb der kontraktile Masse liegen, also ganz anders als bei den Säugern, wo die Kerne zunächst innerhalb der röhrigen Fibrillenscheide zu liegen kommen. Bei der Forelle besitzt die primäre Fibrille anfangs ein sehr geringes Kaliber und misst in Fig. 1a $0,5 \mu$; es begreift sich leicht, nach unseren vorstehenden Auseinandersetzungen, dass im Inneren der Fibrille keinerlei Strukturen wahrnehmbar sein können, auch wenn solche vorhanden sein sollten.

Diese erste Fibrille geht durch Wachstum und Differenzierung in die Form eines Röhrchens über (Fig. 1b, 2a und b), dessen Wand zunächst homogen, später (auf dem Querschnitte) undeutlich geknotet erscheint. Der Zeitpunkt, an welchem die innere Lichtung auftritt, variiert erheblich, doch ist ihr frühes Auftreten ein ganz gewöhnlicher Fall und ich lege diesen meiner Darstellung zugrunde, weil er in theoretischer Hinsicht besser verwertbar ist. Die Lichtung erscheint anfänglich nur in Form einer zentralen Aufhellung des Fibrillenquerschnittes, wie in Fig. 1b zu sehen ist. Der Durchmesser des Gebildes beträgt nunmehr $0,8 \mu$ und es ist klar, dass die durchsichtige Stelle im Inneren allein schon aus optischen Gründen weder sehr hell, noch sehr scharf begrenzt sein kann, da die am inneren Kontur auftretenden Zerstreuungskreise notwendigerweise die Klarheit des Bildes in starkem Grade beeinflussen müssen. Ausserdem ist so gut wie sicher, dass das Röhrchen anfänglich eine ziemlich stark färbare Substanz enthält. Dem Kaliber nach können wir die röhrike Faser nunmehr ein Säulchen nennen. Nimmt dasselbe an Querschnitt zu (Fig. 2a und b), so tritt allmählich eine schärfere Begrenzung des Lumens auf, während gleichzeitig an der soliden Wandschichte eine undeutliche Knotung hervorzutreten pflegt,

welche zweifellos auf eine fibrilläre Zusammensetzung des Zylinders bezogen werden muss (Fig. 2b)¹⁾. Bei noch stärkerer Erweiterung des Querschnittes fällt der Ring in Tochtersäulchen auseinander (Fig. 3 und 4), welche das Bild der späteren Stadien in nuce wiederholen (vergl. Fig. 11c). Diese Säulchen sind also ihrer Entstehung nach in Form eines Zylinders angeordnet und erscheinen von Anfang an in radialer Richtung verbreitert. Diese ihre radiale Ausdehnung ist jedoch zunächst nicht so stark ausgesprochen wie später, weswegen auch die Bandform der älteren Säulchen an ihnen einstweilen nicht so deutlich hervortritt. Dahingegen zeigen sie nach meiner Wahrnehmung von Anfang an, also sobald sie irgend erkennbar werden, die bekannten Spaltungserscheinungen (Fig. 3).

Diese Stadien des Auseinanderfalls der Primärfibrille sind naturgemäss schwer verfolgbar, weil die Tochtersäulchen bei ihrem ersten Auftreten im kritischen Abstände von etwa $0,2\ \mu$ befindlich sind. Ausserdem ist offenbar, dass zwischen den Säulchen, wie schon vorher in der zentralen Lichtung des Röhrchens, anfänglich eine färbbare Grundmasse vorhanden ist, die das mikroskopische Bild verdunkelt. Diese Grundmasse ist zuweilen noch auf den mittleren Stadien der Entwicklung (wie bei Fig. 11a) zwischen den Muskelbändern nachweisbar, jedoch alsdann von ungemein zarter Beschaffenheit.

Theoretisches.

Unsere Erfahrungen an dem vorstehend geschilderten Objekte und unsere Abbildungen stellen zunächst die folgenden Punkte klar. Sie lehren:

1. Dass in unserem Falle die sämtlichen Querschnitte kontraktile Fäserchen, kleinere wie grössere, völlig homogen erscheinen, wobei die feinsten im Kaliber dem kritischen Grenzwerte nahe kommen (vergl. auch Fig. 15), während die grössten sich als zusammengesetzte Säulchensysteme darstellen.

2. Dass zwischen allen diesen Faserbildungen zahllose Übergangsformen existieren und dass sie sämtlich durch Teilung, bzw. differenziatorische Zerlegung sich vermehren, wobei die komplexen höheren Kombinationen nachgewiesenermassen durch

¹⁾ Vergleichsweise sei erwähnt, dass Rollett von *Hydrophilus piceus* röhrenförmige Muskelsäulchen beschreibt. Denkschr. d. Königl. Akad. d. Wiss. mat.-nat. Kl., LI. Bd., I. Abt., Taf. I, Fig. 3; dazu Text, S. 9 f.

unvollkommene Teilung der niederen Formwerte entstehen. Alle diese Formen bilden somit eine natürliche Teilkörperreihe.

3. Dass das untere Ende dieser Reihe, oder sagen wir: ihr Beginn, zweifellos auf metamikroskopischem Gebiete liegt, weil nämlich

- a) oberhalb der kritischen Schwelle, bei welcher die mikroskopischen Strukturen auflösbar werden, auf frühen und mittleren Stadien der Entwicklung (anfangend von Fig. 3) der ringförmige Querschnitt des kontraktilen Zylinders nachweislich durch radiale Spaltung seiner Elemente fortdauernd an Durchmesser zunimmt und weil
- b) unterhalb derselben Schwelle (Fig. 1 und 2) die erstmals angelegte Solitärfibrille durch blosses Dickenwachstum ebenfalls einen ringförmigen Querschnitt liefert, welcher unmerklich sich erweitert, bis die Struktur die Schwelle der Wahrnehmbarkeit überschreitet und der Ring in seine Einzelelemente auseinanderfällt.

Wir schliessen demgemäss von der oberen Strecke der Reihe, welche in sich optisch different ist, auf die untere Strecke derselben Reihe, bei welcher die optische Differenzierung unmöglich ist: zwischen beiden Strecken liegt lediglich die artefizielle Schwelle des Instrumentes. An dieser Stelle machen wir ausdrücklich darauf aufmerksam, dass wir hier nicht etwa die Form des Analogieschlusses benutzen. Denn beim Analogieschlusse geht man sprungweise von einem Objekte auf ein anderes über: wir hingegen bleiben bei dem nämlichen Objekte, dessen allmähliche Veränderung in der Zeit wir verfolgen. Das mikroskopische Bild ändert freilich seinen Charakter beim Übergang von Fig. 2b zu Fig. 3, allein wegen der besonderen Gründe, die lediglich in der Physik des Instrumentes liegen, können wir nur eine stetige Entwicklung der erstmals angelegten Fibrillen anerkennen, also eine Entwicklung, welche dauernd in den nämlichen Formen sich vollzieht. Die Primärfibrille wird daher im Prinzip die nämliche Struktur besitzen wie die zusammengesetzten Muskelzylinder der Fig. 3, 4 usf.; sie wird aus einer Summe von metafibrillären Elementen bestehen, aus deren radialer Spaltung der homogene Hohlzylinder der unmittelbar folgenden Stadien in kontinuierlichem Zuge hervorgeht. Und wiederum

müssen die bandförmigen Säulchen der späteren Stadien ebenfalls die gleiche metafibrilläre Struktur besitzen, denn letztere ist die materielle Voraussetzung dafür, dass die Säulchen grundsätzlich zu jeder Zeit, also bei beliebiger Grösse und Form des Querschnittes, der freiwilligen Längsspaltung fähig sind, und zwar sowohl in radialer, wie (späterhin bei der definitiven Aufspaltung der Säulchen und Säulchengruppen) paratangentialer Richtung.

Wird nun die Existenz teilungsfähiger Metafibrillen zugegeben, so ist es wiederum eine selbstverständliche Forderung, dass diese Art des freiwilligen Teilungsvermögens, welche dem biologischen Wesen nach den Formen der ungeschlechtlichen Fortpflanzung analog ist, in der Richtung des Kleinen ein Ende haben muss. So gelangt man dazu, mit vollkommener Sicherheit auf die Existenz kleinster teilungsfähiger Einheiten oder Protomeren zu schliessen, deren weitere künstliche Aufspaltung nur noch Trümmer des Protoplasmas liefert. Diese Schlussfolge trifft wiederum mit unseren allgemeinsten Erfahrungen über das Plasma als Träger des Lebens zusammen. Diese Erfahrungen gehen nach drei Richtungen.

Erstlich hat sich aus experimentellen Untersuchungen längst ergeben, dass nicht die Zelle der Träger des physischen Lebens ist, sondern dass das Leben jedem kleinsten überhaupt als lebend zu bezeichnenden Teile inhäriert (vergl. „Plasma und Zelle“, Bd. I, S. 56–58). Ich erinnere daran, dass abgebrochene Cilien noch Bewegungen zeigen; wo aber Bewegung ist, da ist Erregbarkeit, Leitungsfähigkeit, Atmung, Wärmebildung, Umsatz potentieller in kinetische Energie usf. — kurz: da sind alle primitiven Lebenserscheinungen vorhanden. Das Leben einer abgebrochenen Cilie ist jedoch nicht entlehnt oder erborgt von der Zelle, wie manche Gelehrte meinen, denn ein erborgtes, eingeblasenes oder eingehauchtes Leben gibt es nicht; vielmehr ist das physische Leben eines derartigen kleinen isolierten Teiles ebenso aktiv wie das Leben überhaupt. Im Verhältnis zu den kleinsten Lebensseinheiten, von denen die Rede war, ist die Cilie freilich immer noch ein riesiger Körper; allein die kleinsten lebendigen Teile sind in bezug auf die Aktivierung des Lebensprozesses gewissermassen von gleicher Qualität wie die ganze

Cilie und, hätten wir die äusseren Mittel einer zureichenden Beobachtung, so würden wir zweifellos die typischen Lebenseigenschaften auch noch an den allerkleinsten Plasmateilchen kontrollieren können. — Zu diesen gehört aber unter anderem auch die Möglichkeit der Fortpflanzung oder Übertragung des Lebens durch Teilung. Remak hat als erster den biologischen Erfahrungssatz „*omne vivum ex vivo*“ auf ein gewebliches System, die Gewebezelle, übertragen. Die neueren Erfahrungen haben aber gezeigt, dass auch die sämtlichen in der Zelle enthaltenen und zu ihrem Bestande gehörigen Organellen ebenso wie diese selbst durch Teilung sich fortpflanzen (ausser dem Kern und den Chromosomen auch die Zentren, Zentriolen, Chlorophyllkörper, Muskelfibrillen etc.) und so ist der Remaksche Satz gleichsam auf immer kleinere Zellbestandteile zurückverlegt worden. Es ist daher nur richtig, zu schliessen, dass die Teilbarkeit aller sichtbaren Zellorganellen in letzter Linie auf der spontanen Teilungsfähigkeit der kleinsten Lebenseinheiten beruht. Wir können also die vorstehende Auseinandersetzung kurz zusammenfassen und sagen: weil das Plasma als solches der Herd des Lebens ist, d. h. eines aktiven Prozesses, der auf Selbsterhaltung geht, so muss es dem Satze, dass Leben immer nur vom Leben stammt, unterliegen, und es muss durch innere Teilungsakte, welche an den kleinsten Lebenseinheiten sich vollziehen, sich der Masse nach fortpflanzen.

Zweitens hat man seit langem die Erfahrung gemacht, dass innerhalb des Zelleibes einzelne kleine Teile degenerativ absterben und sequestriert werden können. Diese Tatsache deutet unmittelbar darauf hin, dass die kleinsten Teile des Plasmas begrenzte, in biomechanischem Sinne „selbstlebende“ Körperchen sind; erst durch ihre Existenz wird die Erscheinung des begrenzten Plasmatodes erklärlich. Wir haben hier *mutatis mutandis* genau die nämlichen Erscheinungen wie bei der Zelle selbst, welche im Verhältnis zu den kleinsten lebenden Teilen ein Histomer oberer Ordnung ist. Jedes Histomer¹⁾ unterliegt zunächst seinen eigenen inneren physiologischen Bedingungen und Gesetzen, von denen Leben und Tod, funktionelle und formative Eigenschaften, der Akt der Selbstteilung usw. ab-

¹⁾ Die Terminologie vergl. in „Plasma und Zelle“ I, S. 100.

hängen. Wie nun bei der Zelle das Leben ein aktiver Prozess ist, der auf Selbstunterhaltung geht, und wie sie andererseits einer Summe von Regulationen oberer Ordnung unterliegt, die aus der Verfassung der Gewebe, der Organe, des Körperganzen herrühren, so geht auch das Leben des Protomers in seinem eigenen Bereiche zunächst auf Selbstunterhaltung, während es andererseits von den engen Bedingungen der Umgebung, im besonderen von der natürlichen Verfassung des übergeordneten Systems abhängig ist. Die Störung oder Aufhebung der mit dieser Verfassung verbundenen Regulationen kann Krankheit und Tod nach sich ziehen, ebensogut wie eine primäre Insuffizienz des Lebensprozesses im kleinsten Teilkörper selbst.

Drittens lehrt die Erfahrung, dass innerhalb des Plasma-leibes der Zellen häufig unter unseren Augen aus scheinbar homogenen Massen besondere, gut sichtbare Differenzierungen entstehen. Diese Vorgänge haben ihre materielle Grundlage darin, dass die lebendige Masse überall aus kleinsten lebenden Teilen diskreter Art besteht, welche sich momentan zu neuen Strukturen zusammenfügen können. Auf diese Weise entstehen viele innere und äussere Zellorganellen binnen kurzem unter dem Auge des Beobachters, wie z. B. Polstrahlen und andere Plasmafaserungen, Cilien, fadenartige Pseudopodien usf. Das gemeinschaftliche aller dieser Bildungen ist, dass es sich um linienhafte Organellen handelt; der Prozess der Organisation erfolgt in solchen Fällen längs einer bestimmten Strukturachse. Soll z. B. eine Polstrahlung innerhalb einer scheinbar homogenen Plasmamasse sich entwickeln, so setzt dies voraus, dass die lebende Substanz aus einer Summe diskreter Teilchen besteht, welche sich nach den Dimensionen des Raumes, hier in radialer Richtung, zu orientieren und aneinanderzufügen vermögen. Die Vorgänge dieser Art bezeichnete ich als Epanorthose. Man kommt mithin bei Betrachtung der einfachsten formativen Prozesse ohne weiteres zu dem Schlusse auf die wahre und wirkliche Existenz der kleinsten Lebenseinheiten, welche aus anderen Gründen als Teilkörper letzter Ordnung sich bestimmen lassen.

Den Erscheinungen der Epanorthose entsprechen auf der anderen Seite die Erscheinungen der Einschmelzung oder Katachonie. Denn gerade so, wie viele Strukturen unter

unseren Augen sich bilden, so schwinden sie auch wieder, oft binnen kürzester Frist, durch innere Auflösung in ihre Bestandteile. Nun wird niemand annehmen wollen, dass beispielsweise beim Schwinden einer Polstrahlung die plasmatische Substanz als solche zertrümmert wird. Vielmehr kann man nur folgern, dass die Strahlen in sich zusammenfallen, indem die in ihnen befindlichen kleinsten lebenden Teile aus ihrem Verbande sich lösen, gegeneinander beweglich und für andere Zwecke des Zellebens wiederum verwertbar werden (über Epanorthose und Katachonie vergl. „Plasma und Zelle“ II, S. 977, S. 988 ff., S. 1090 ff., S. 1098 ff.).

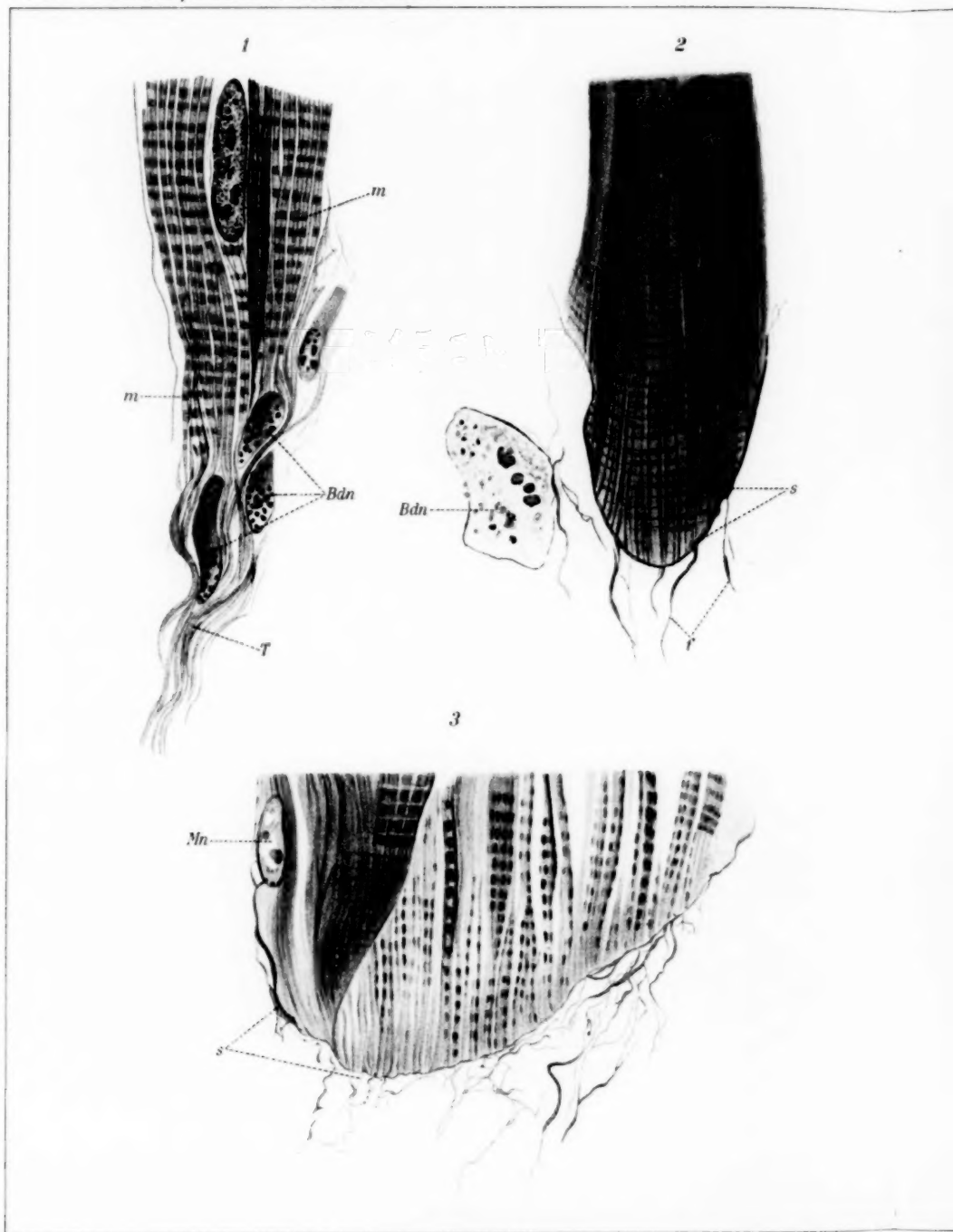
Fassen wir das Letztgesagte kurz zusammen, so ist also unser Gedankengang der folgende gewesen. Die Entwicklung der kontraktile Fasermasse geht bei der Forelle in jedem Myoblasten je von einer Primitivfibrille aus, welche auf dem Wege der Assimilation, des Wachstums und der inneren bzw. äusseren sukzessiven Teilung eine grosse Nachkommenschaft diverser Fibrillen, Säulchen und Säulchensysteme liefert. Diese bilden eine natürliche homologe oder besser homöotypische Teilkörperreihe, welche stetiger Natur ist und deren Beginn demgemäss auf metamikroskopischem Gebiete, bei den kleinsten Metafibrillen bzw. deren Querschnittselementen, den kleinsten Teilkörpern oder Protomeren, liegen muss. Die metafibrilläre bzw. Protomerenstruktur aller Fibrillen, Säulchen und Säulchensysteme geht auch daraus hervor, dass sie alle ohne Ausnahme bei jeder Form des Querschnittes teilbar sind, und zwar in radialer Richtung ebenso wie in der Richtung parallel zu den Tangenten des Muskelzylinders. Diese spezifische Form der Teilbarkeit, welche den Akten der ungeschlechtlichen Fortpflanzung analog ist, muss in der Richtung des Kleinen ein Ende haben und die kleinste teilbare Lebenseinheit bezeichnen wir als Protomer. Auf diese Weise kommen wir zu einer wahren Theorie der Elementarorganisation der kontraktile Substanz. Die auf solche Weise gewonnene Anschauung über die Zusammensetzung der lebendigen Masse stimmt ferner mit unseren allgemeinsten Erfahrungen über das Plasma als Träger des Lebens überein. Denn jedes kleinste Plasmapartikelchen ist ein aktiver Herd des Lebens und zum Leben gehört auch die Fortpflanzung oder dauernde Überlieferung desselben durch Teilungsakte (*omne vivum ex vivo* etc.). Anscheinend homogene Plasmamassen wachsen

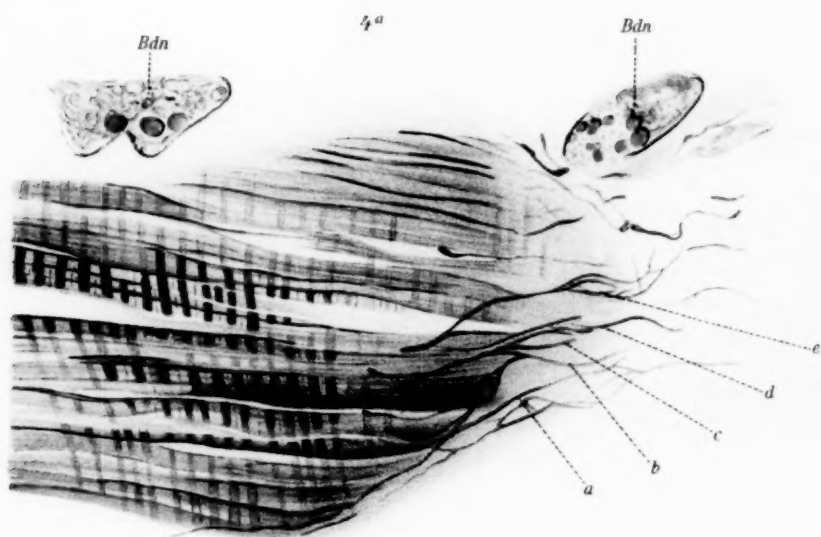
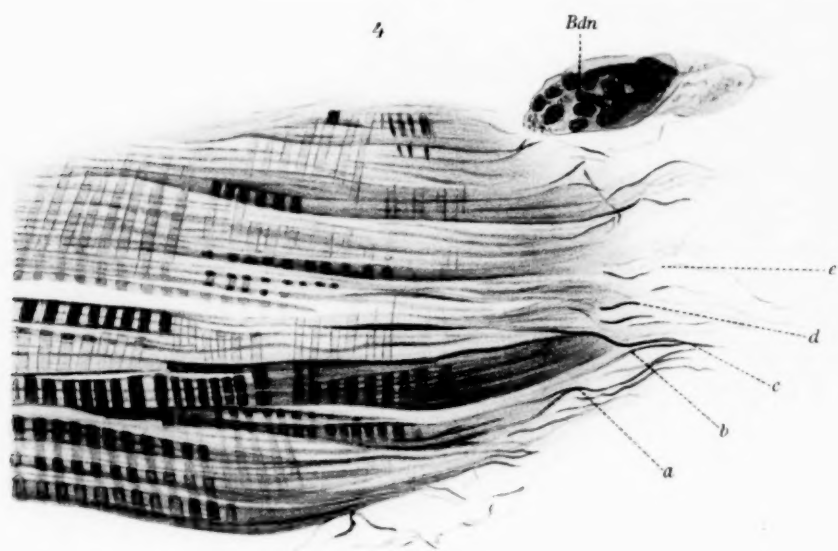
demgemäss auf dem Wege innerer Teilungen. Dieser Charakter der lebendigen Substanz als einer in sich zusammenhängenden Protomerenmasse wird auch erwiesen durch die Erscheinungen des begrenzten Plasmotodes, des plasmatischen Aufbaues oder der Epanorthose und des Abbaues oder der Katachonie. Im übrigen ist unsere Theorie der Elementarorganisation nicht bloss aus der Struktur des Muskels, sondern auch bei vielen anderen Objekten in gleicher Weise ableitbar. (Nähere Ausführungen hierüber in den verschiedenen Kapiteln von „Plasma und Zelle“.) Durch sie werden die veralteten Plasmatheorien von Bütschli, Flemming und Altmann vollständig überflüssig; vor den letzteren hat sie den Vorzug, dass sie nichts anderes ist als eine blosser Ausweitung oder Vertiefung der Theorie der Organisation des tierischen Körpers überhaupt, denn meine Plasmatheorie oder Theorie der Elementarorganisation ist nur ein einzelner Abschnitt der Teilkörpertheorie, welche besagt, dass die Natur überall teilbare Formwerte niedriger Ordnung zu abermals teilbaren Formwerten höherer Ordnung zusammensetzt, woraus sich natürliche Reihen mit wachsender Grösse der Glieder ergeben, welche auf makroskopischem Felde endigen. Hierbei ist es eine Frage von nebensächlicher Bedeutung, ob die gemeinten Teilkörpersysteme effektiv oder nur in der Anlage teilbar sind, wie die Extremität in den Versuchen von Braus.

Die Form der Teilkörperreihen wird in der einzelnen Fällen eine sehr verschiedene sein. Wächst z. B. eine Zelle durch innere Teilungen, so werden sich die Glieder der Reihe zueinander verhalten wie die natürlichen Vielfachen des Grundwertes, denn der sukzessiven Vermehrung des Kerns entspricht nach der R. Hertwigschen Regel auch eine proportionale Vermehrung der Plasmamasse. Die Glieder einer derartigen Reihe, welche sich somit zueinander verhalten wie die Zahlen der natürlichen Zahlenreihe, habe ich als Monomeren, Dimeren, Trimeren und so fort bezeichnet. Es ist nun offenbar, dass diese Bezeichnungen, welche von mir zuerst auf die natürliche Folge der einfachen und zusammengesetzten Dünndarmzotten angewendet wurden, auf die Glieder in der Reihe der Fibrillen, Säulchen und Säulchensysteme nicht mehr anwendbar sind, denn, wie schon hervorgehoben wurde, sind die hier besprochenen fibrillären Elemente bei jeder Form und Grösse ihres Querschnittes durch Spaltung vermehrbar. Jedoch der scheinbare Widerspruch mit der in

unserem Beispiel als wachsend angenommenen Zelle löst sich, wenn wir für erwiesen annehmen, dass das dem Grundwert entsprechende teilbare Anfangsglied in der Reihe der kontraktile Fäserchen eine kleinste Metafibrille ist. Dann würde jedes einzelne Glied der Reihe ein bestimmtes Vielfaches eines meta-fibrillären Formelementes sein.

Den vorstehenden theoretischen Ausführungen wird man den Vorwurf machen, dass ich allzu sehr ins Detail gegangen bin. Indessen wird immerwährend übersehen, dass unsere gegenwärtige deskriptive Histologie in nicht minderem Grade von theoretischen Vorstellungen durchdrungen ist, welche, weil anerkannt, für selbstverständlich genommen werden, obwohl sie zum grösseren Teile vollständig veraltet sind. Die Zellen als „Bausteine“ der Gewebe, die Theorie vom Zellenstaate, die Zelle als Träger des Lebens, die Interzellulärsubstanzen als träge, inerte Massen, — das sind Grundvorstellungen, welche fast ausnahmslos allen bisherigen Arbeiten der wissenschaftlichen Anatomie zur Grundlage dienen. Sollten diese Vorstellungen jedesmal von neuem abgeleitet, ja nur verteidigt werden, so würden die histologischen Arbeiten überall von theoretischen Besprechungen durchsetzt sein müssen. Nur der Umstand, dass die in Rede stehenden populären Hypothesen überall bekannt und anerkannt sind, ermöglicht es, ihre ständige Wiederholung und erneute Begründung zu unterdrücken. Dadurch erhalten dann die deskriptiven Schilderungen in den morphologischen Arbeiten wie durch stillschweigende Vereinbarung ihre unerlässliche Grundlage. Sollte jene allgemeine Theorie der Organisation, welche ich seit mehr als 10 Jahren zu entwickeln unablässig bemüht bin, sich späterhin allgemeiner Beistimmung erfreuen, so würde die jedesmalige Wiederholung des theoretischen Beiwerkes entbehrlich sein und man würde eine unübersehbare Zahl deskriptiver Daten von einem einheitlichen Standpunkte aus erfassen können.





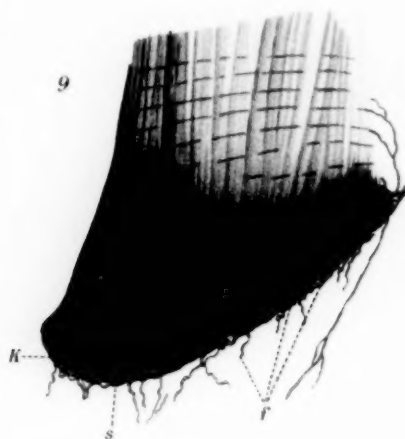
10



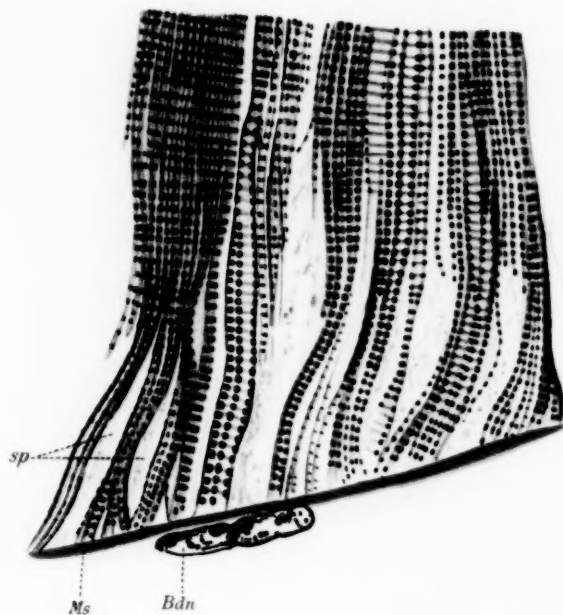
11



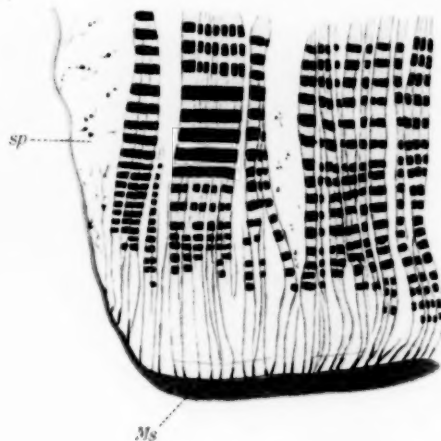
9



5

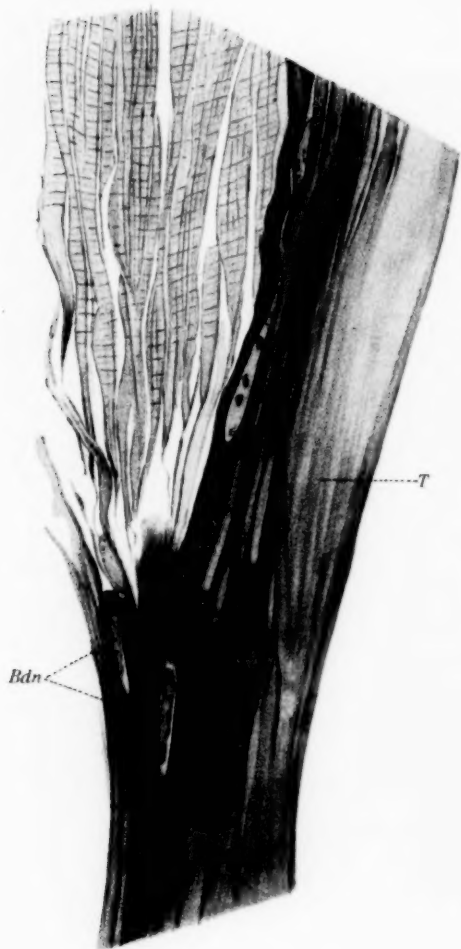


6

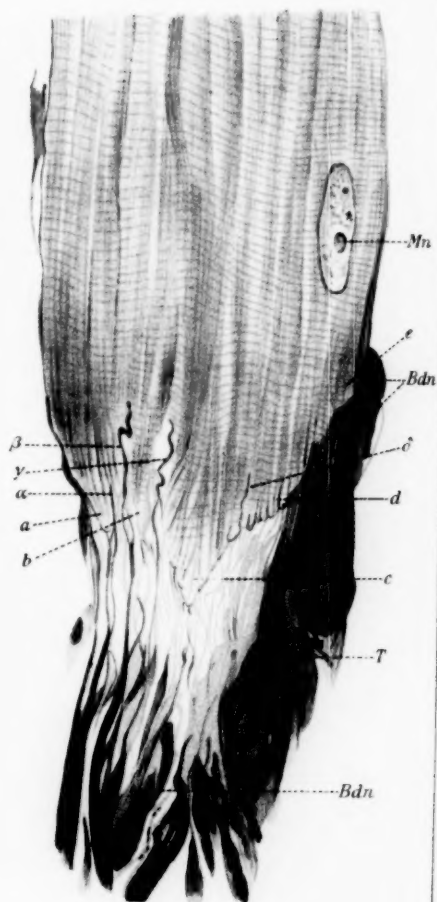


Bd.

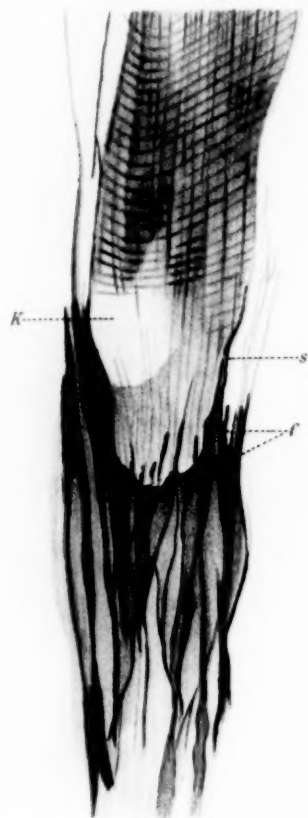
7



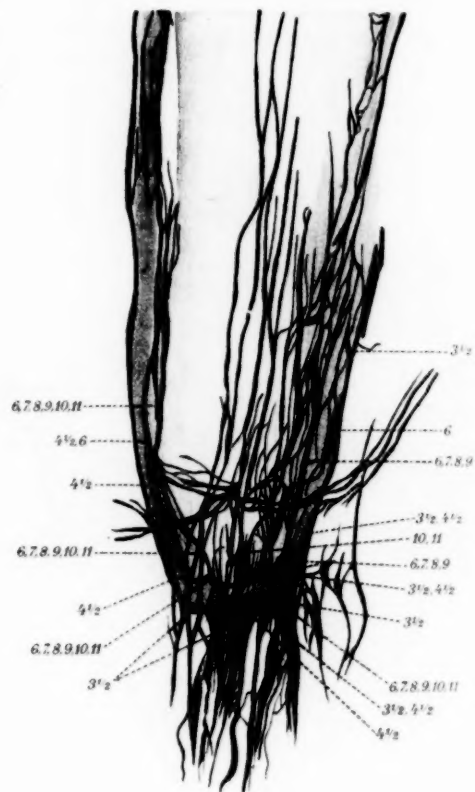
8



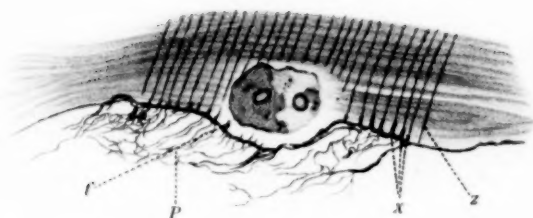
14



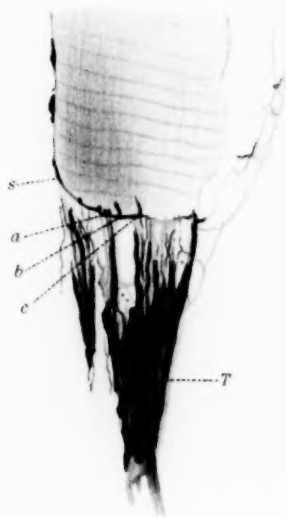
15



18



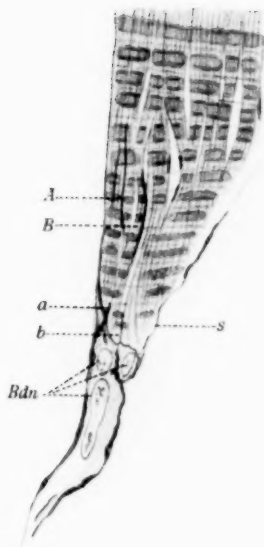
12



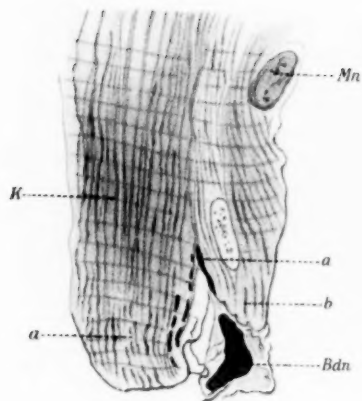
13

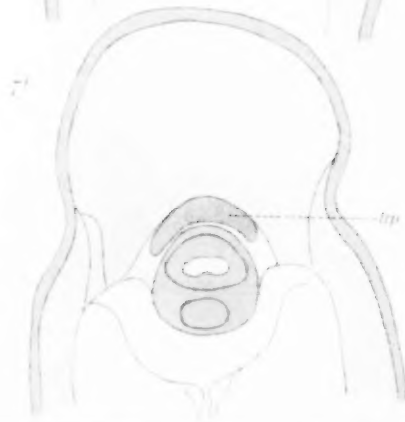
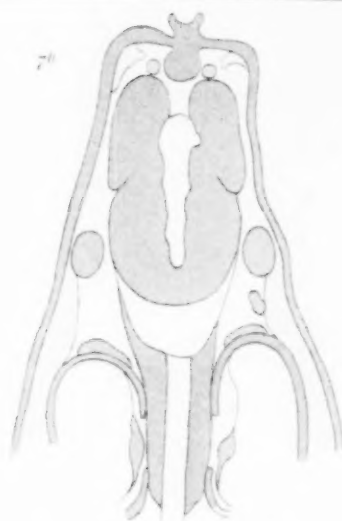
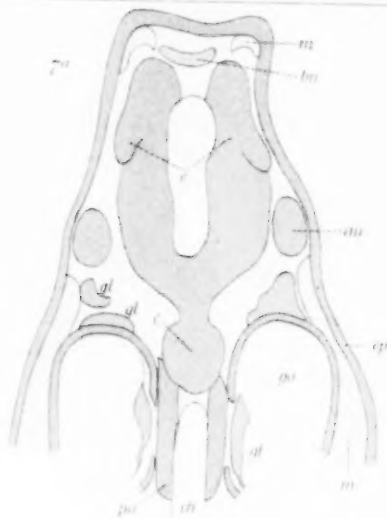


16

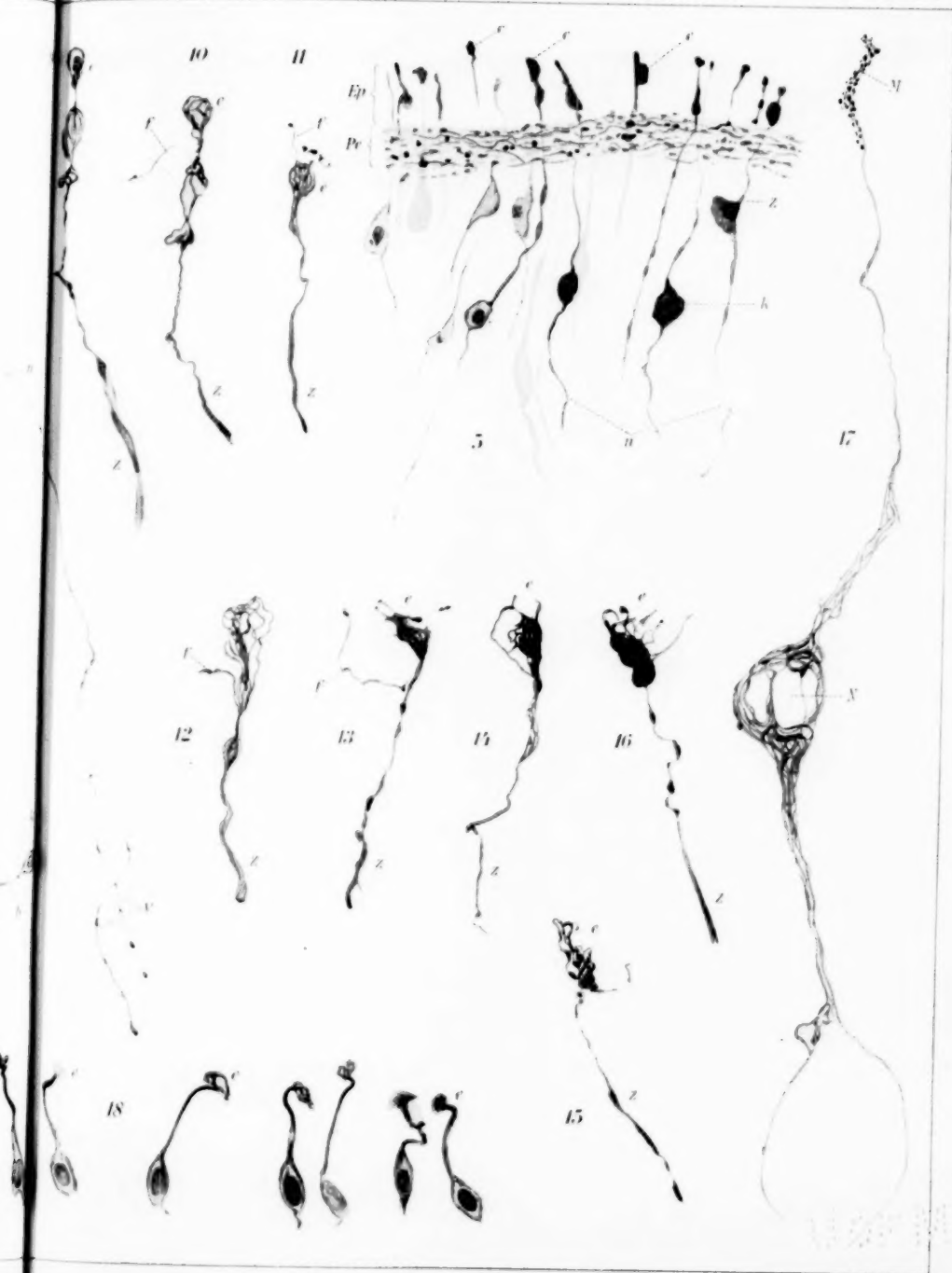


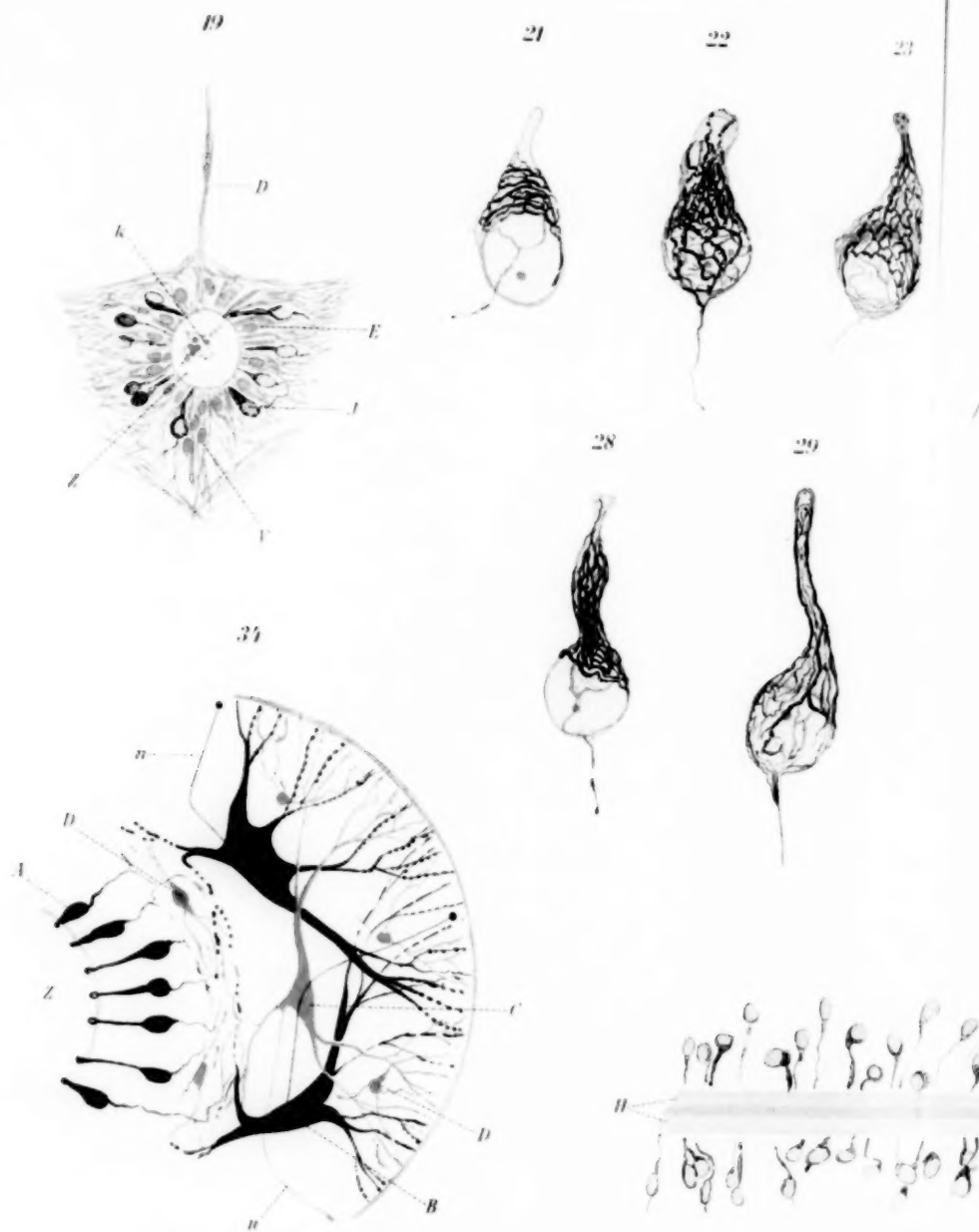
17

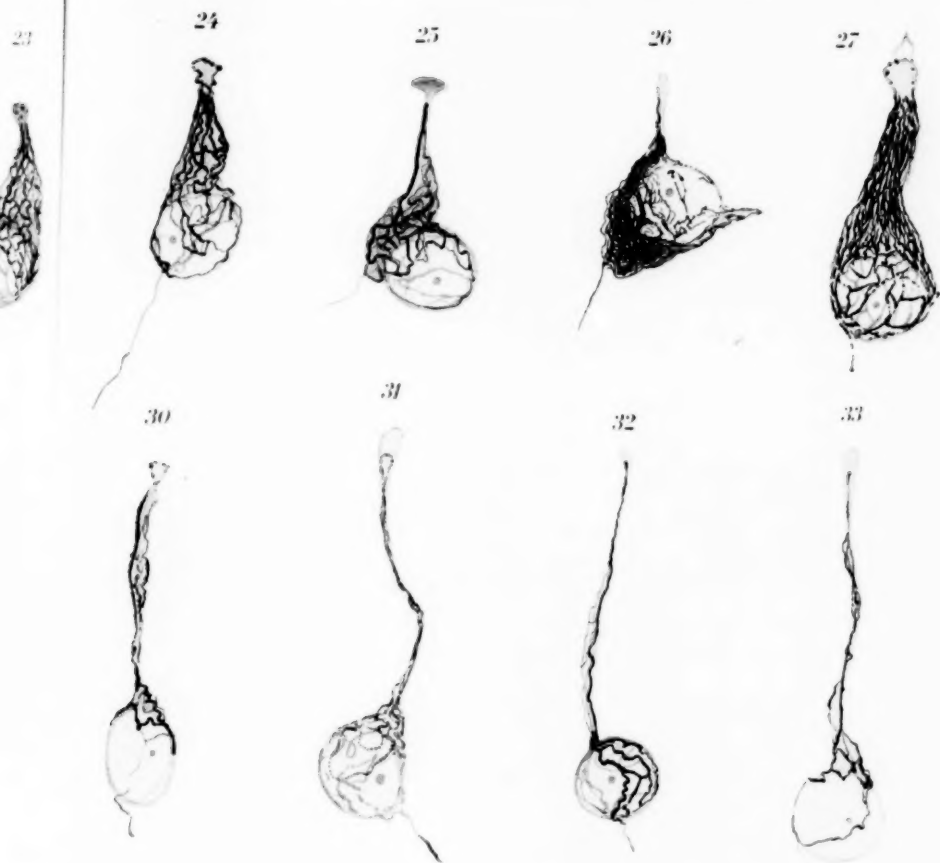




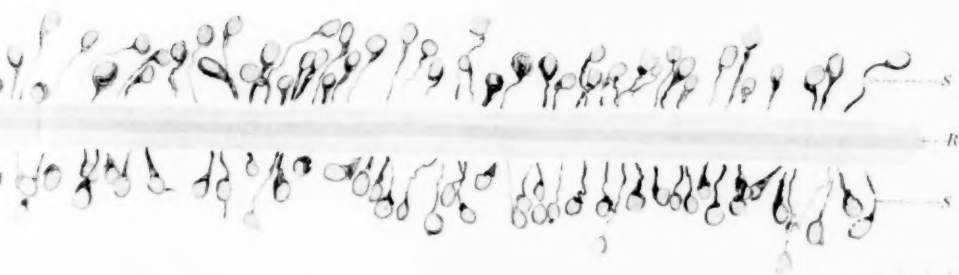




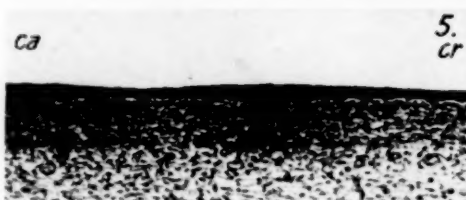
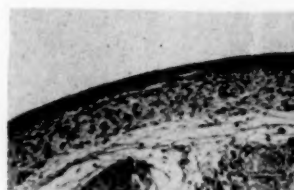
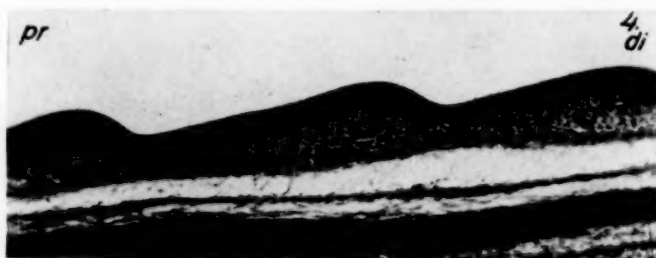
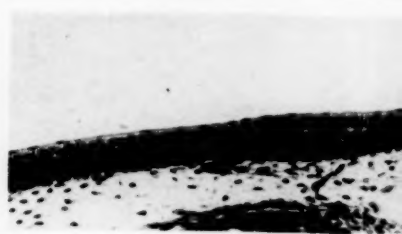
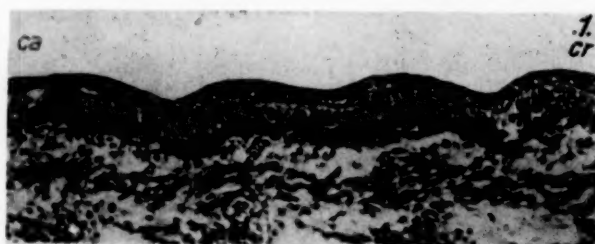


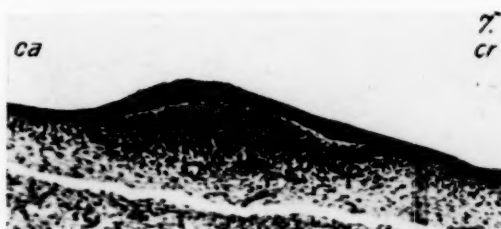
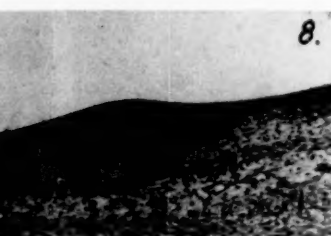
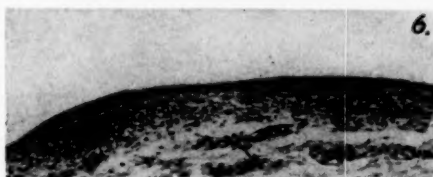
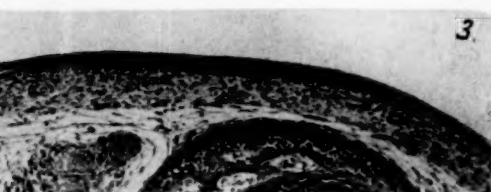
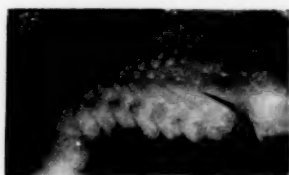
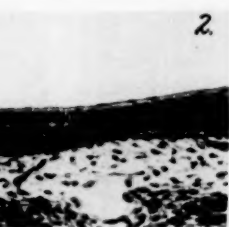


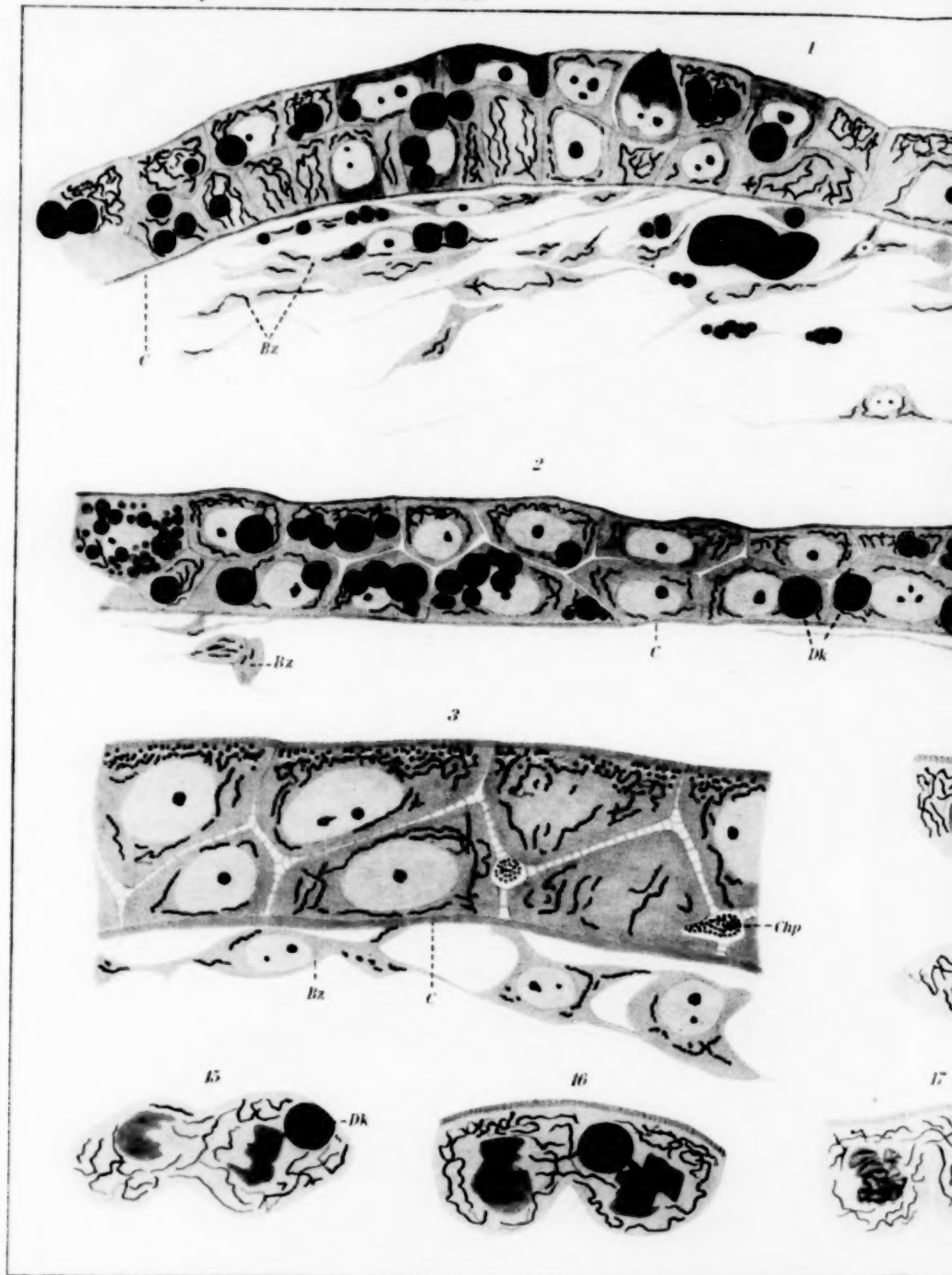
20

 \mathbb{R}

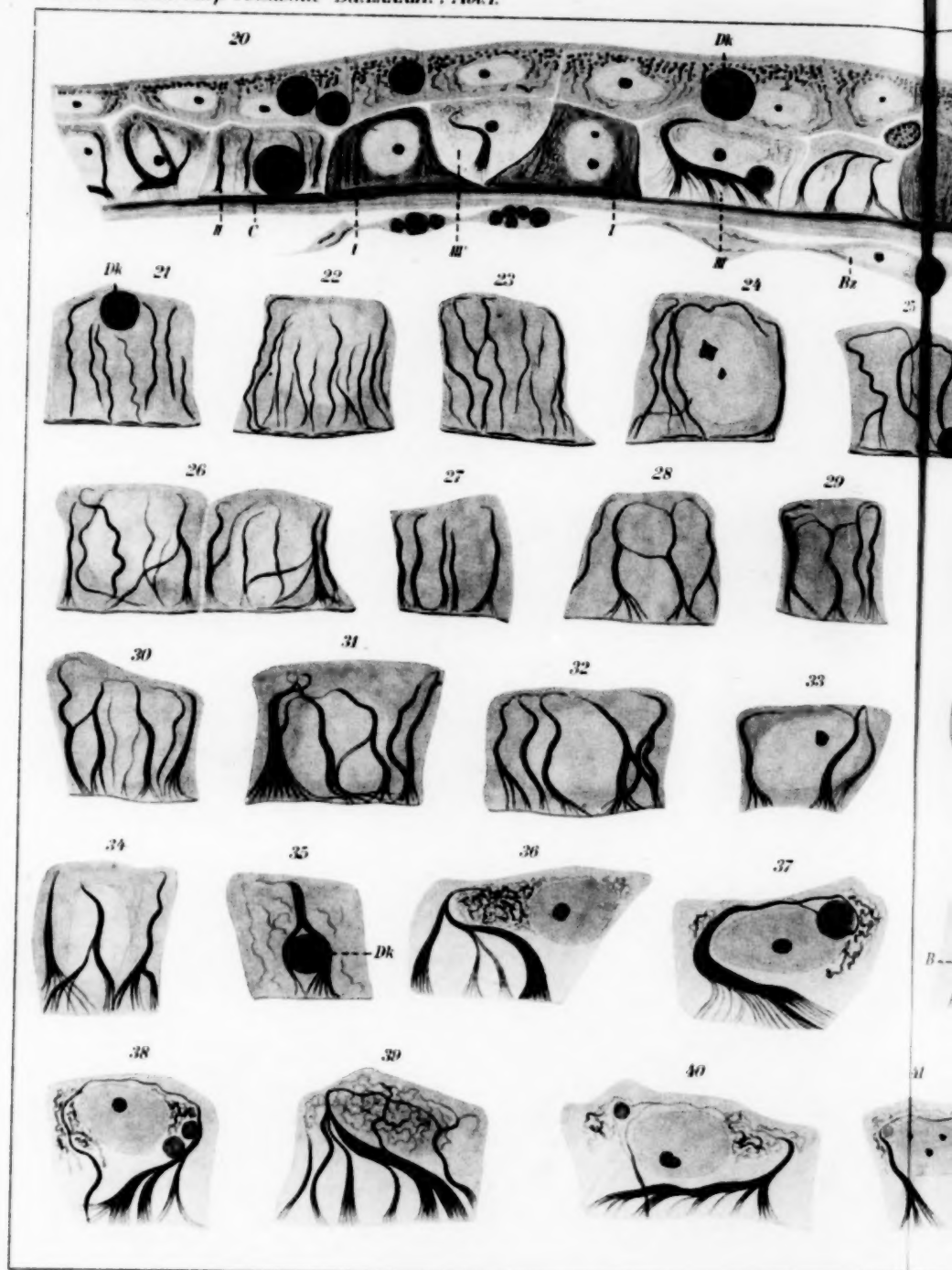
—S

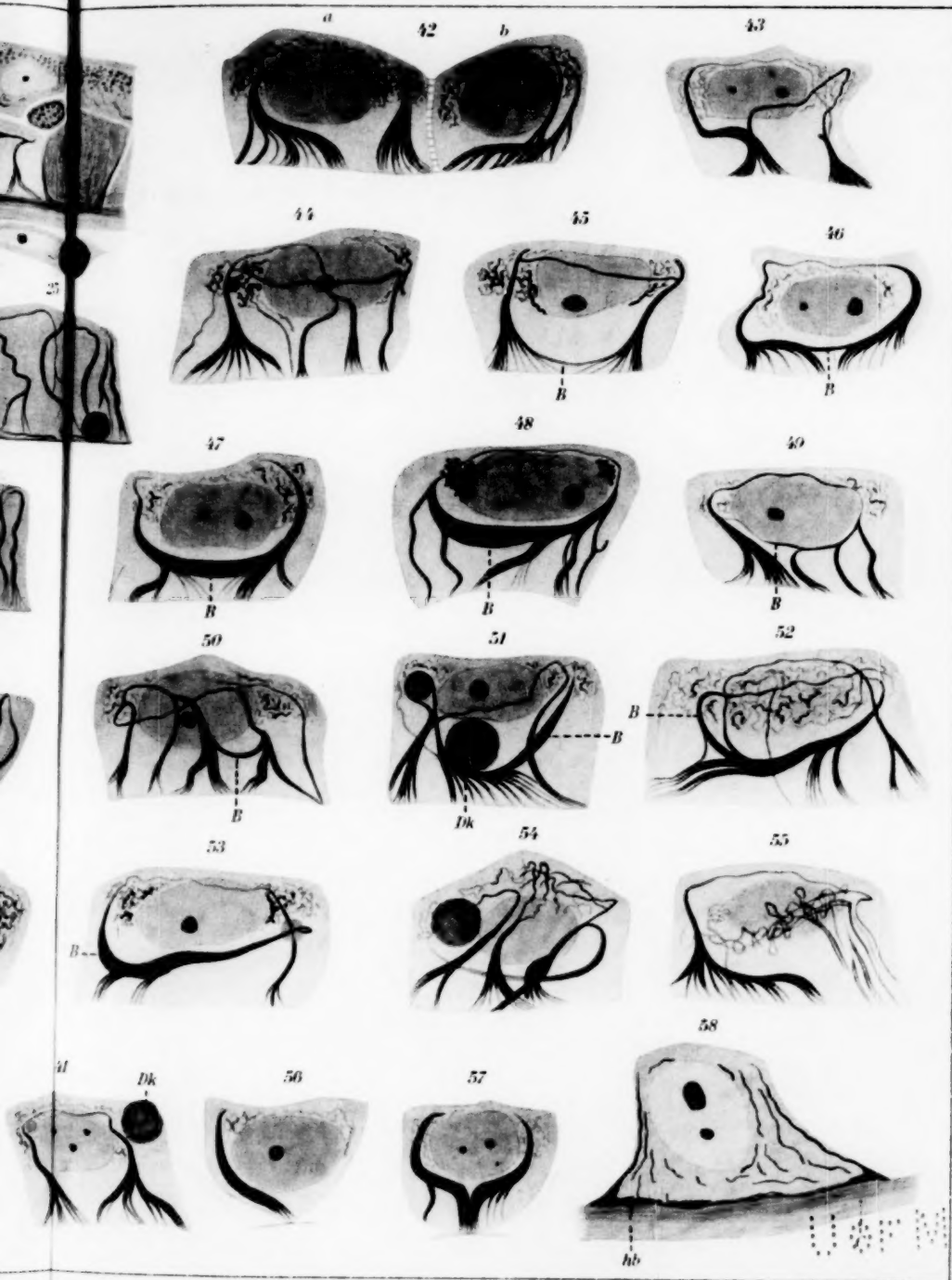




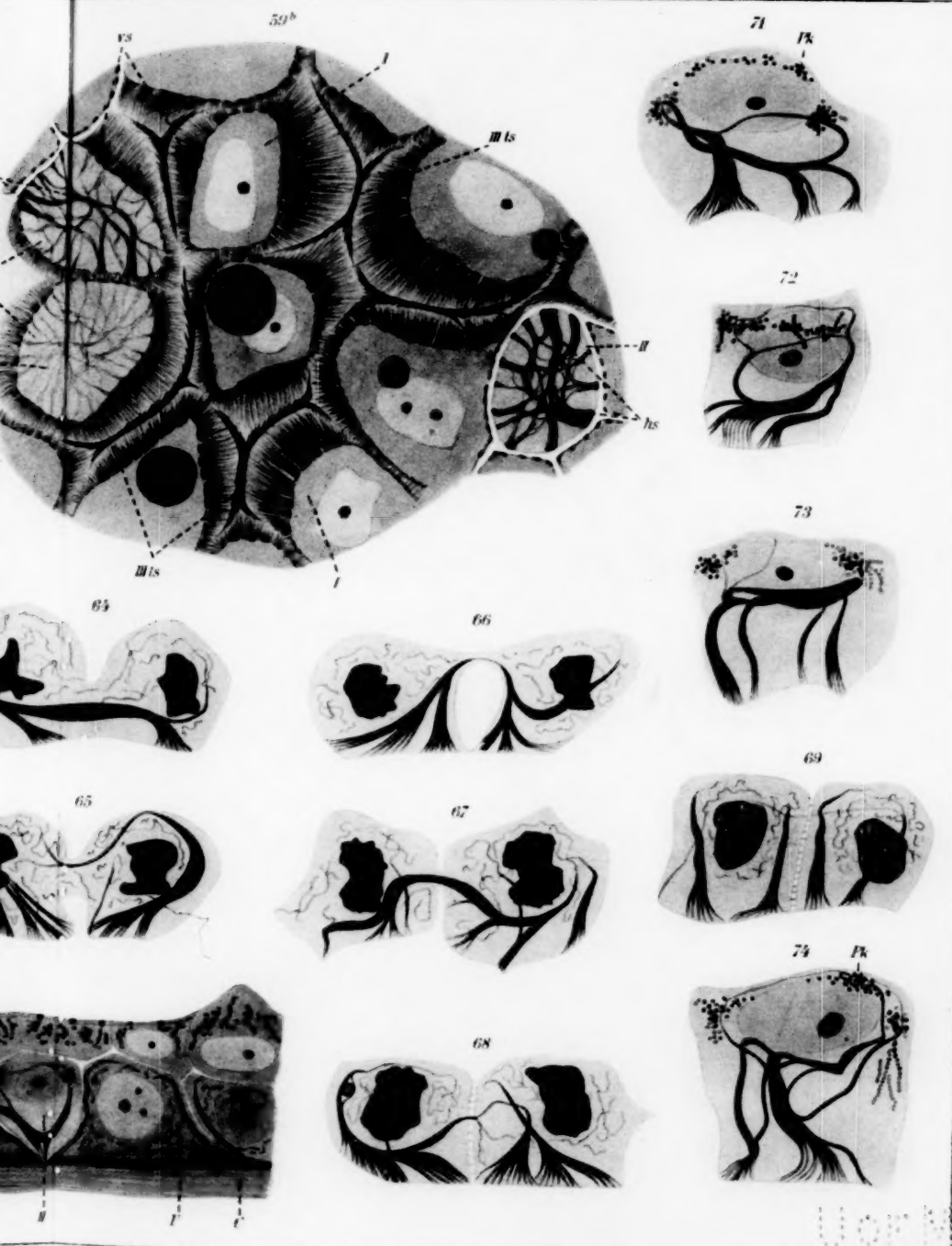


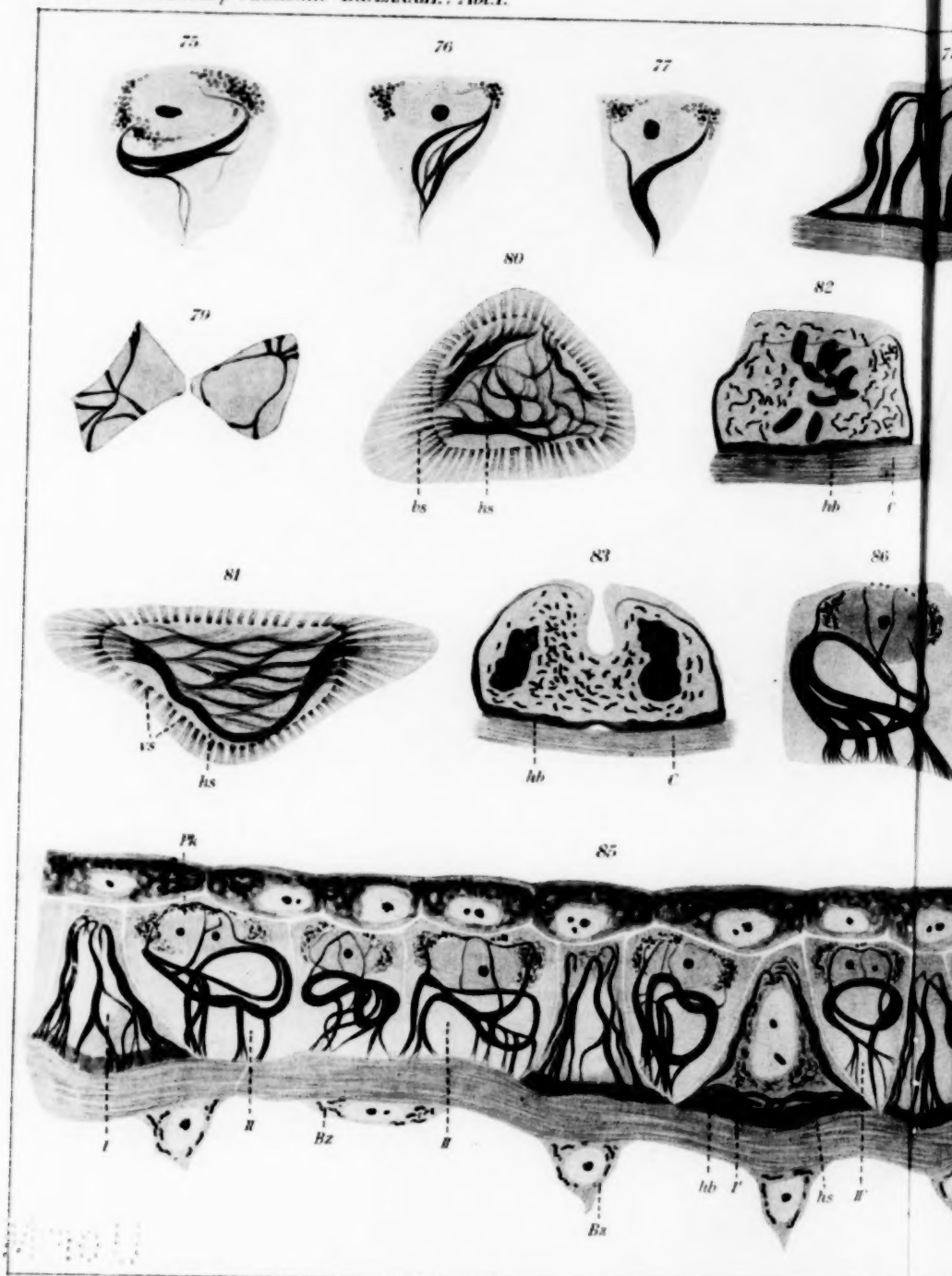


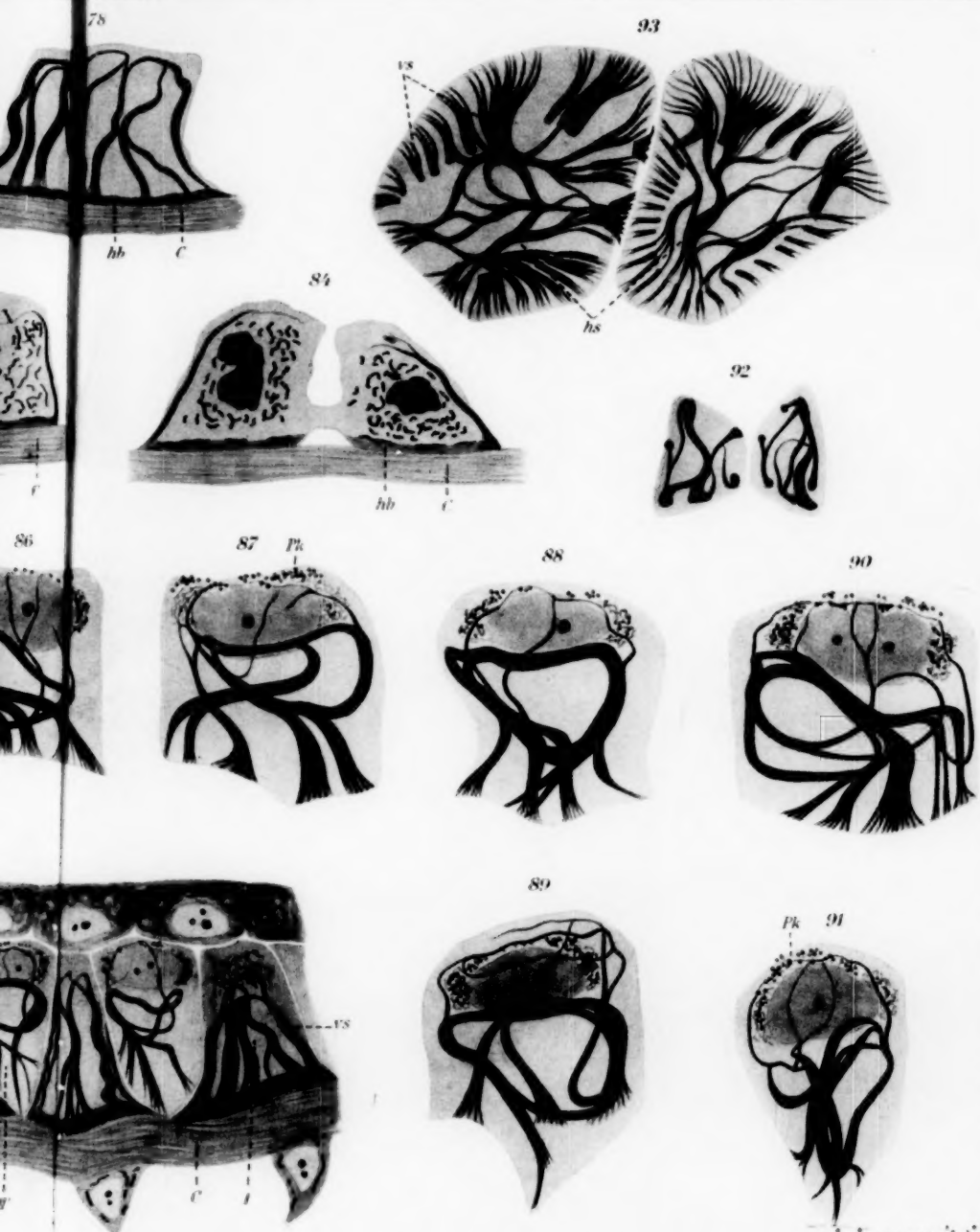




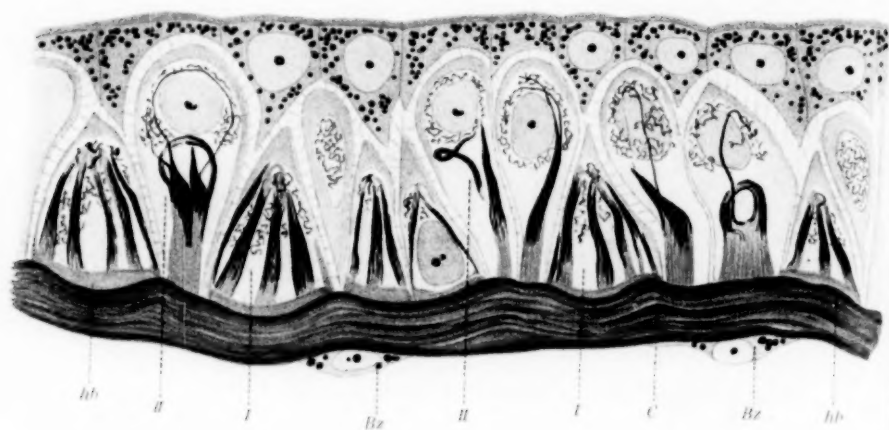




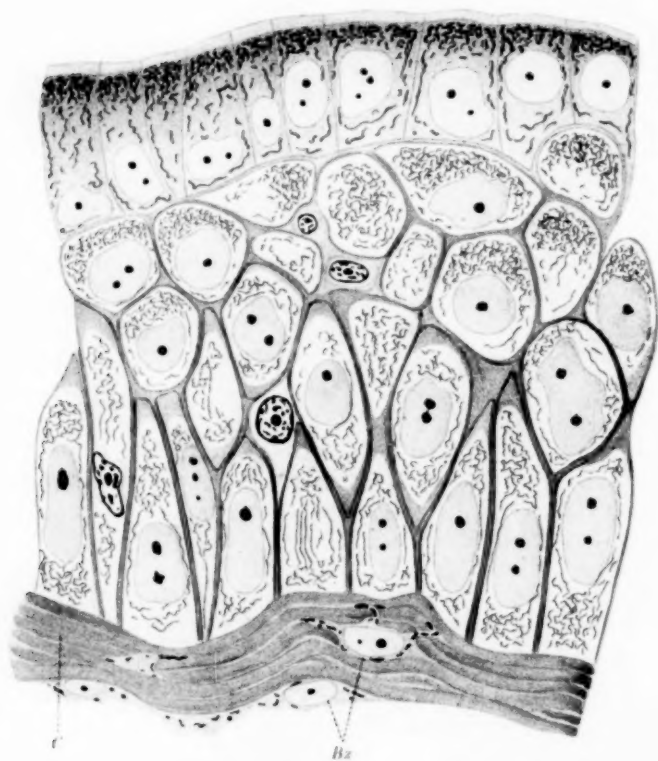




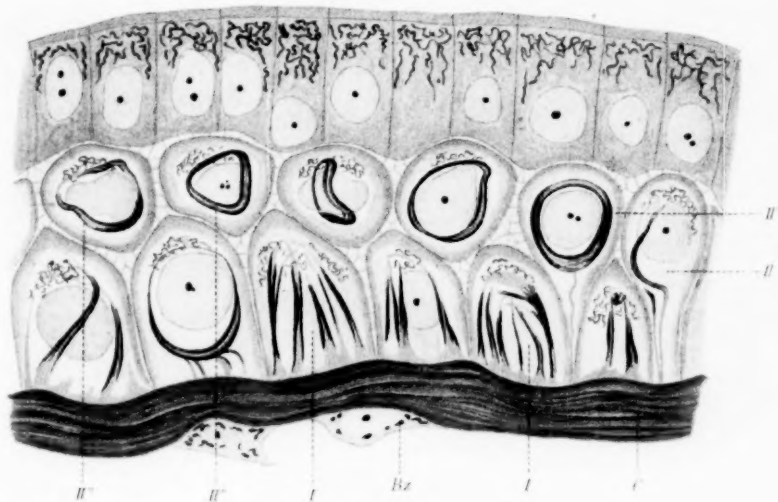
94



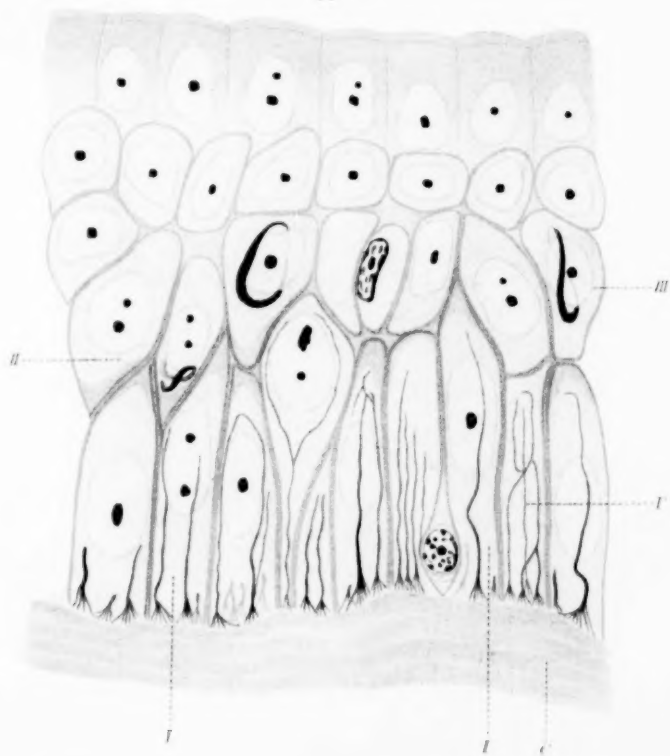
96



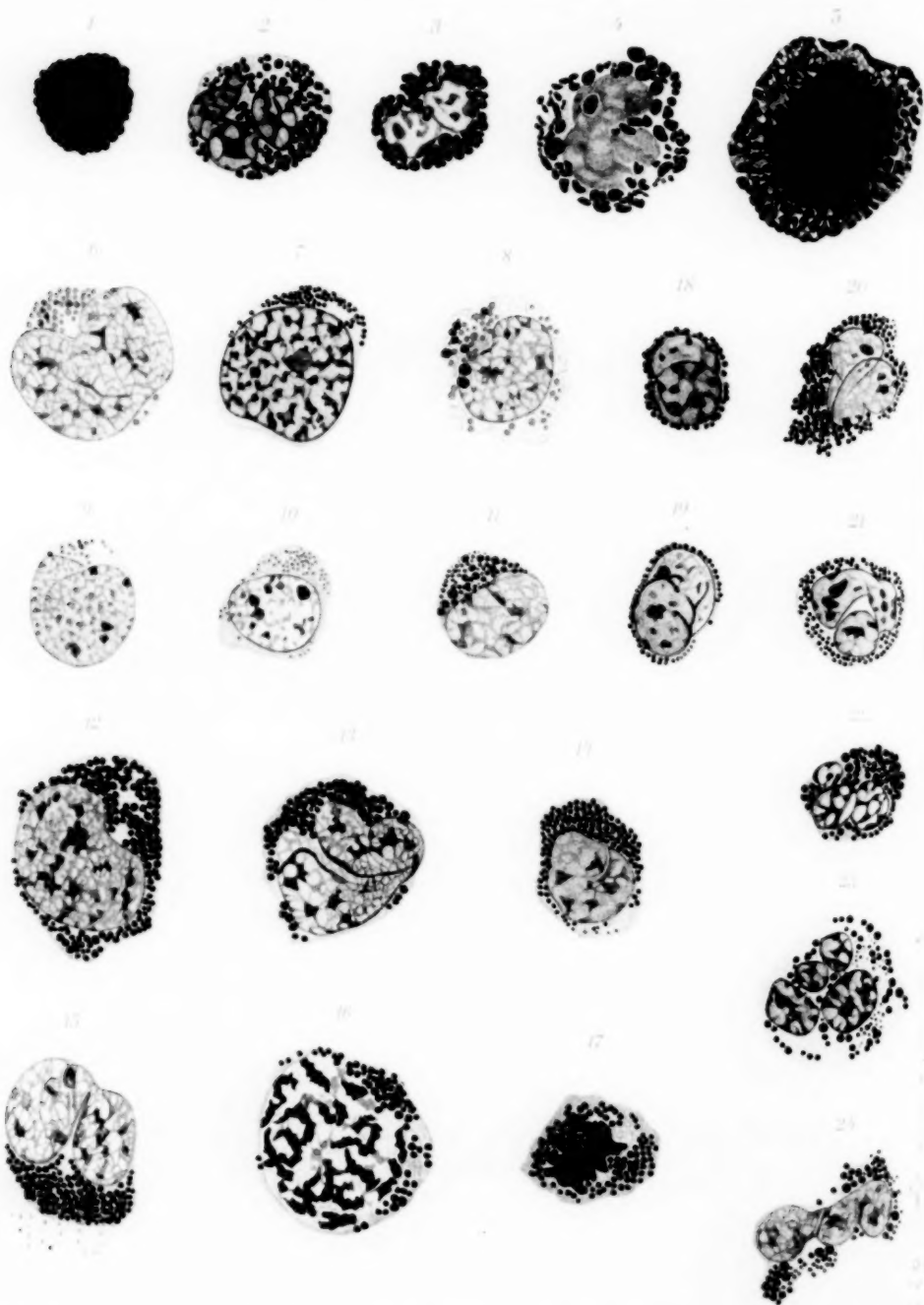
95



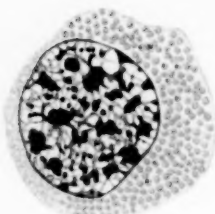
96



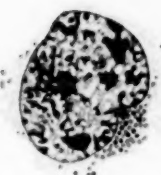
Uor M



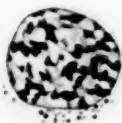
25



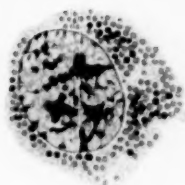
33



34



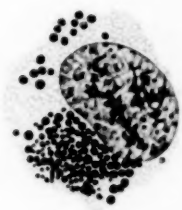
35



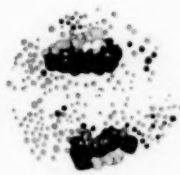
26



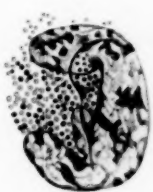
36



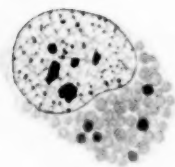
37



38



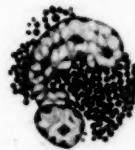
27



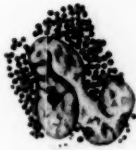
39



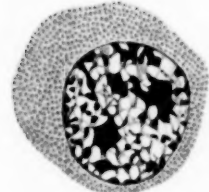
40



41



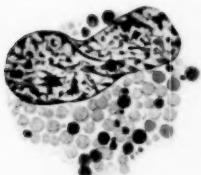
28



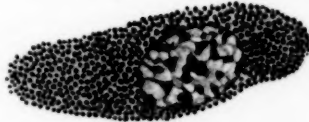
29



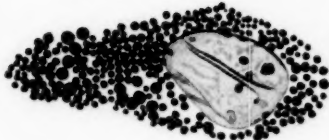
42



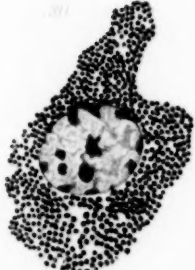
31



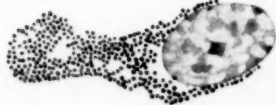
53



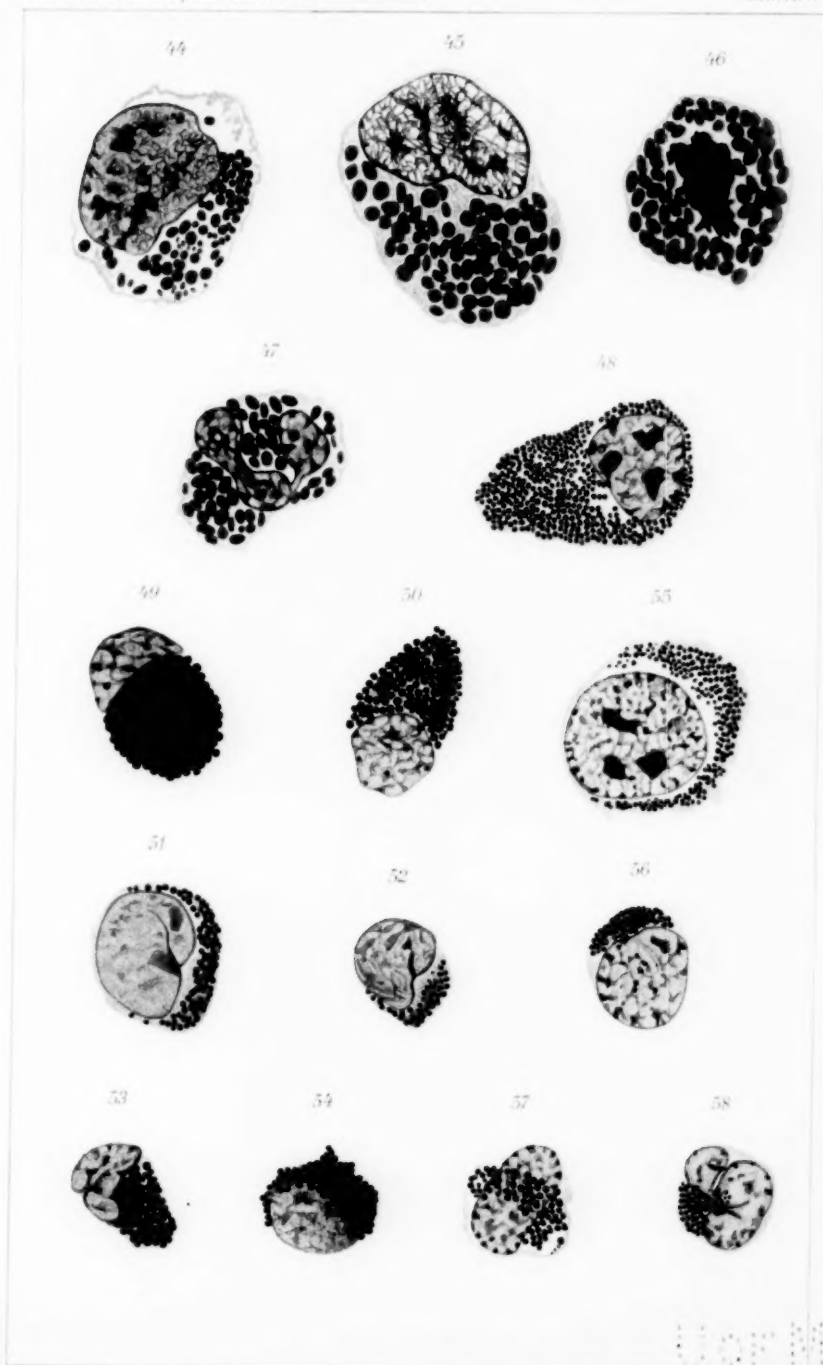
30



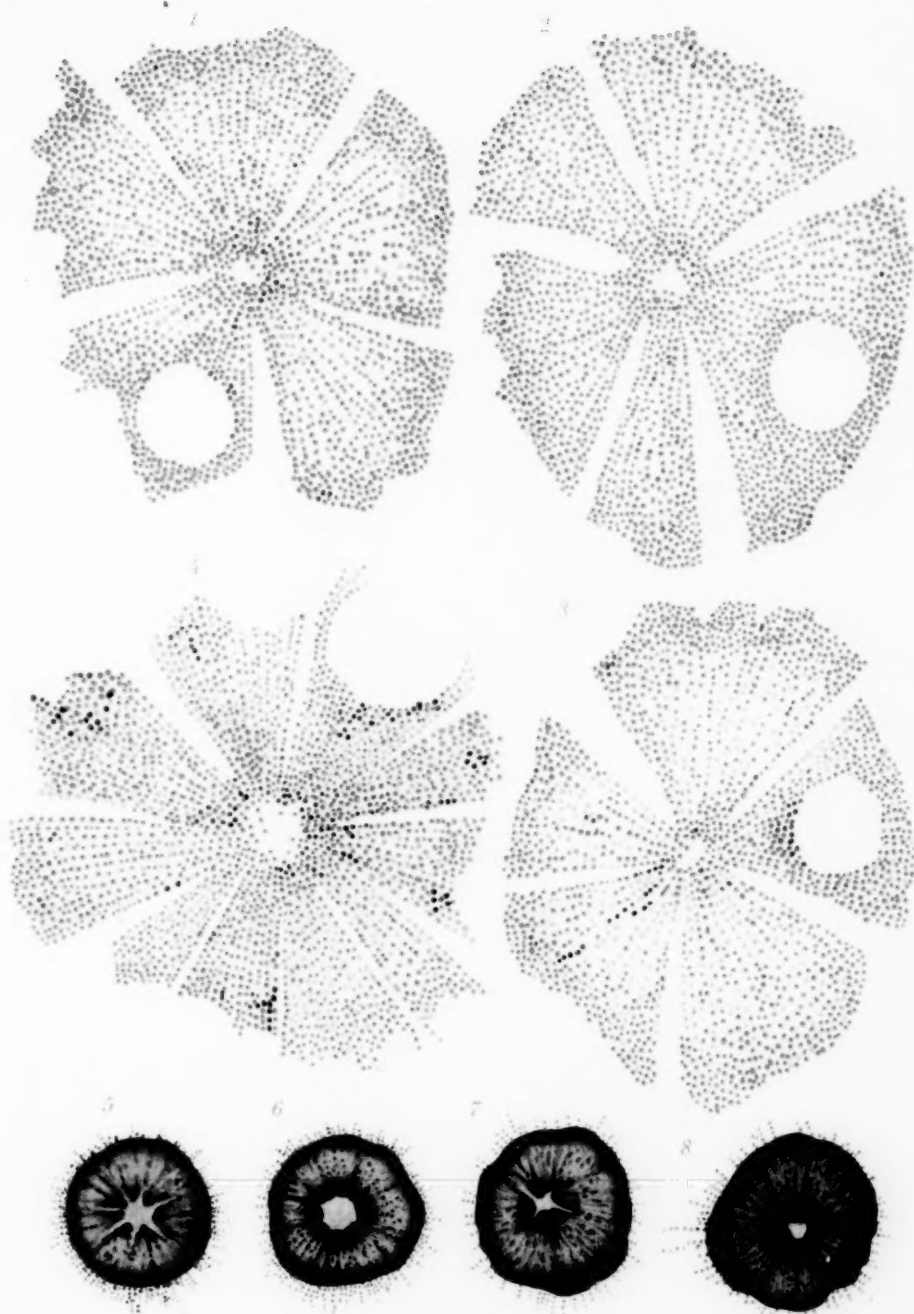
32

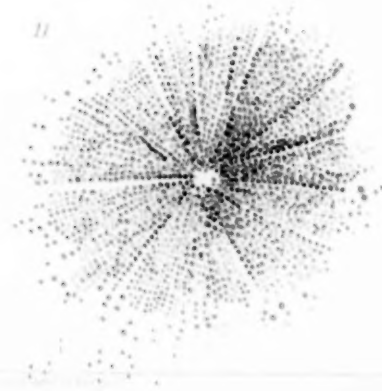
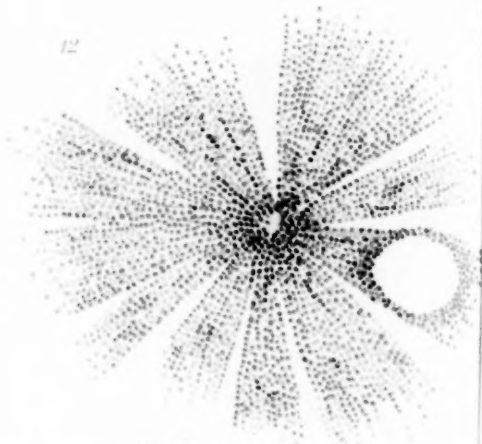
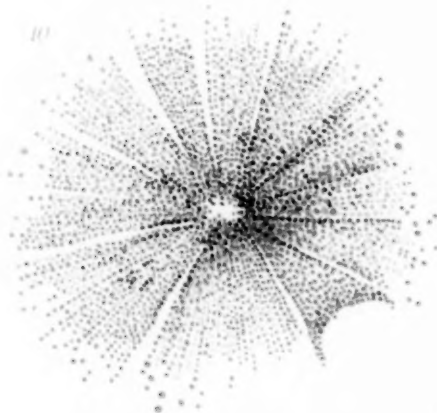
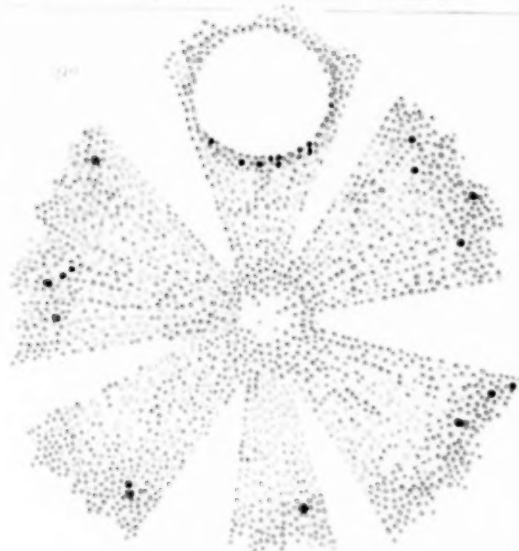


M76U

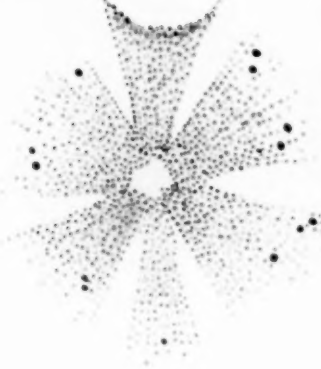


114011





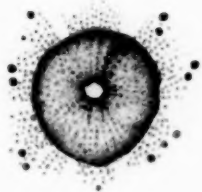
9c



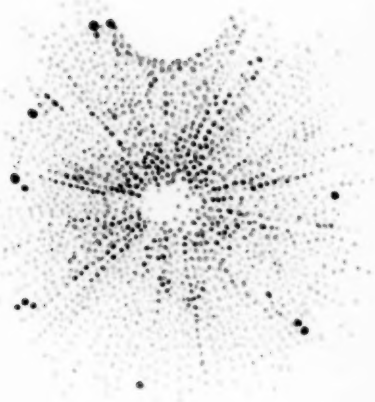
9d



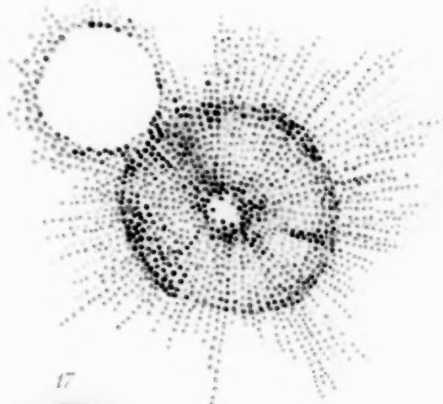
9e



14



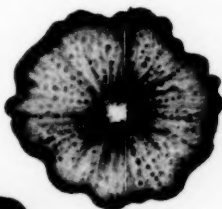
16



17



19



15



18

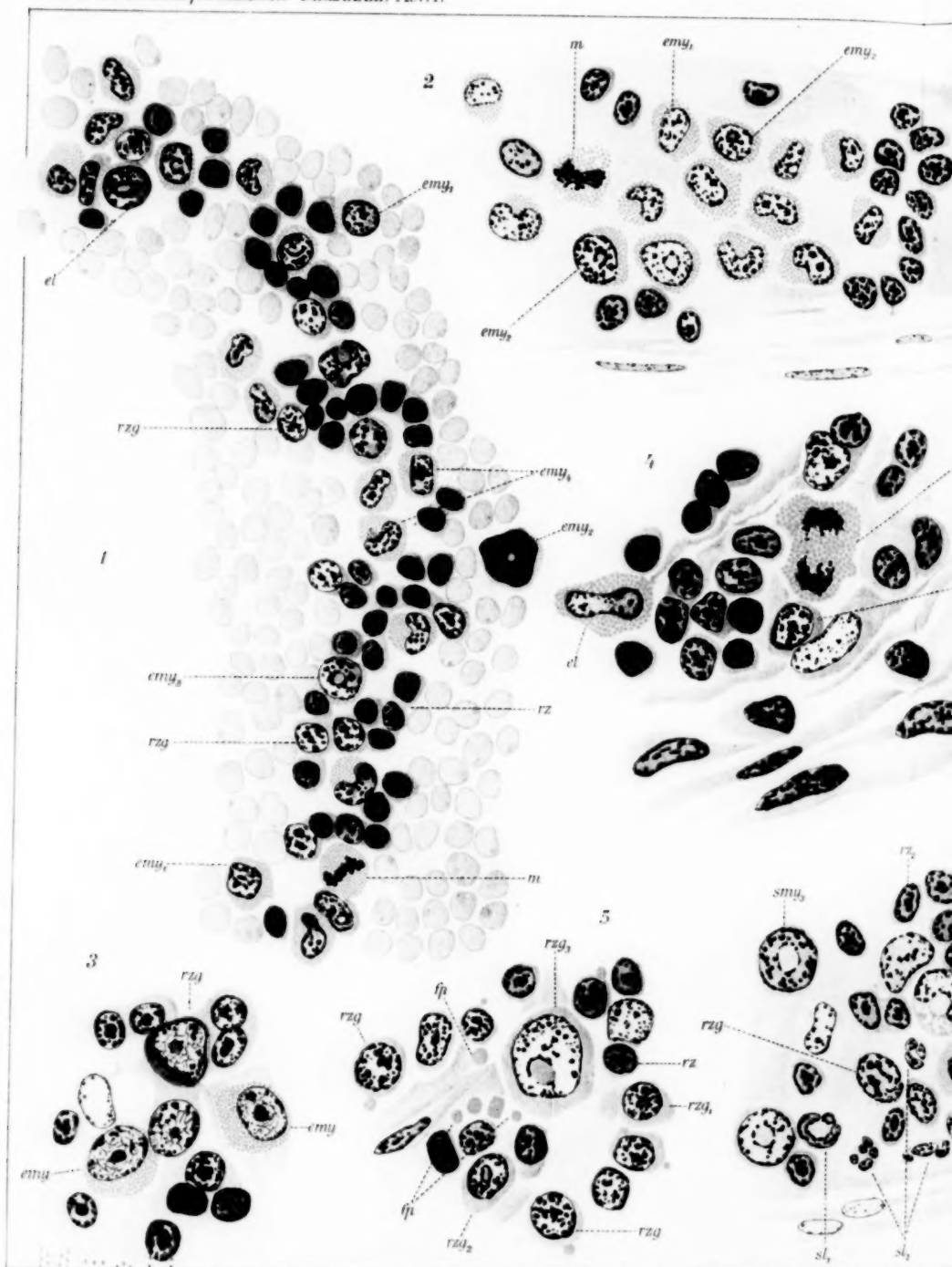


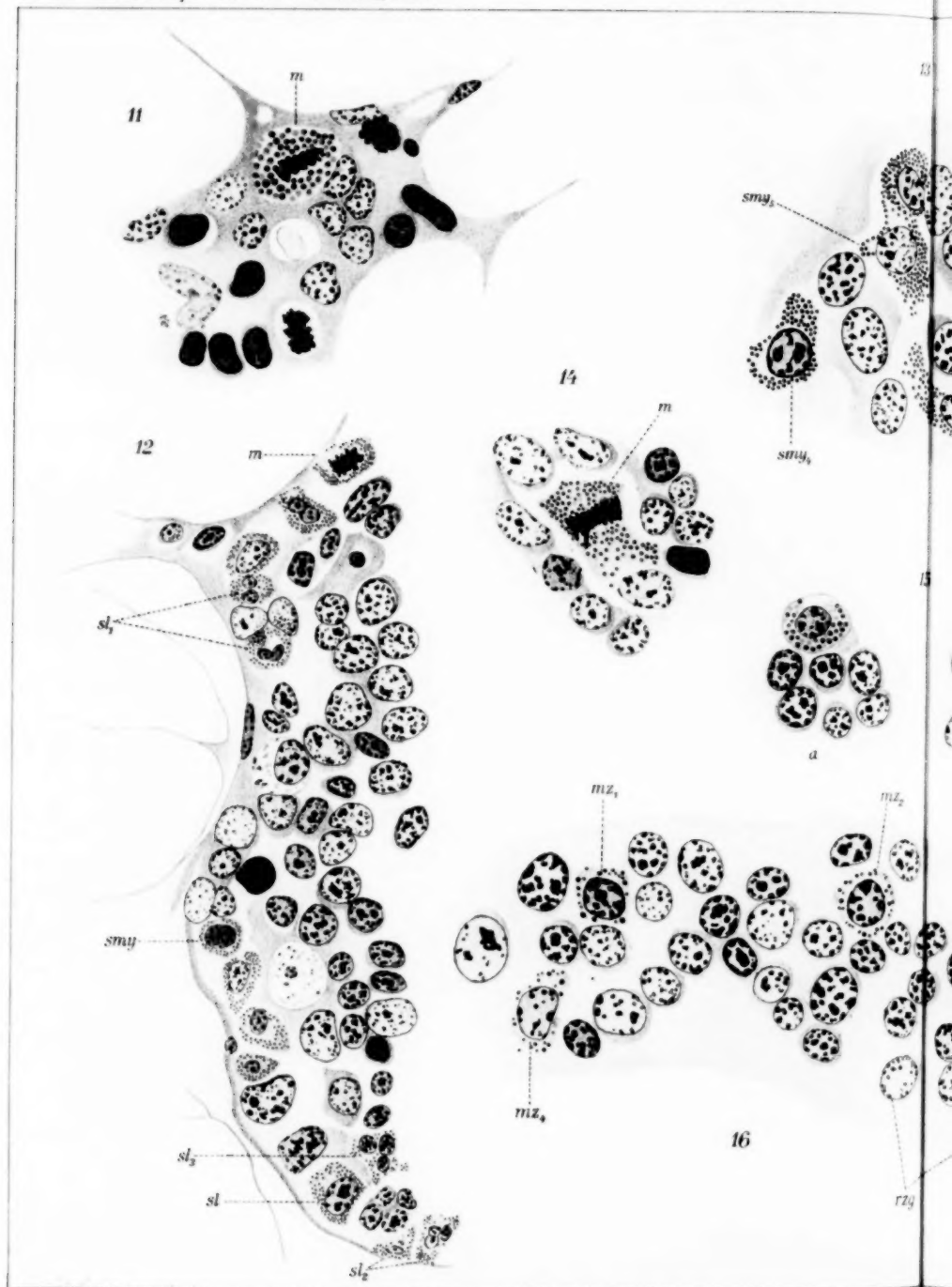
20

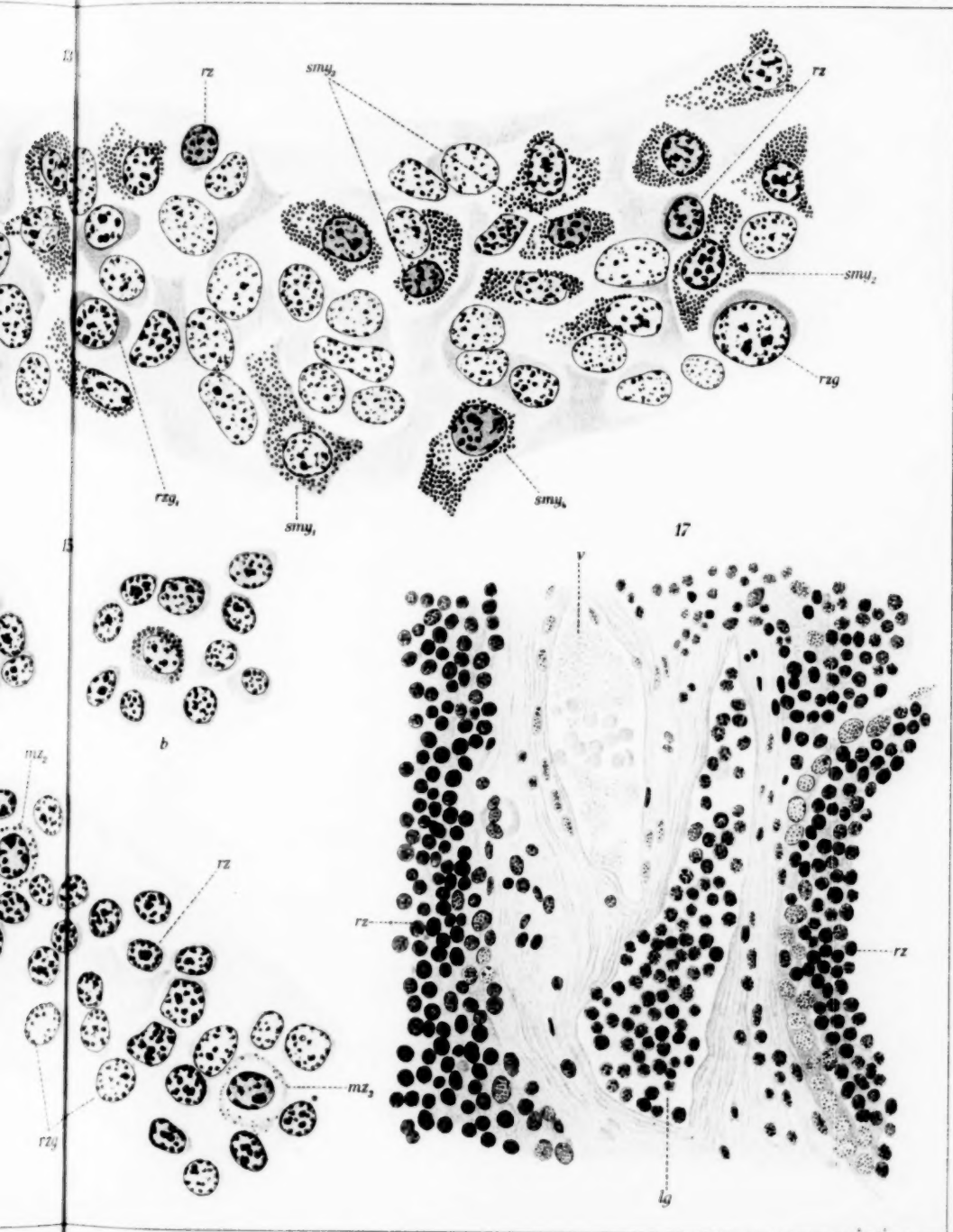


21

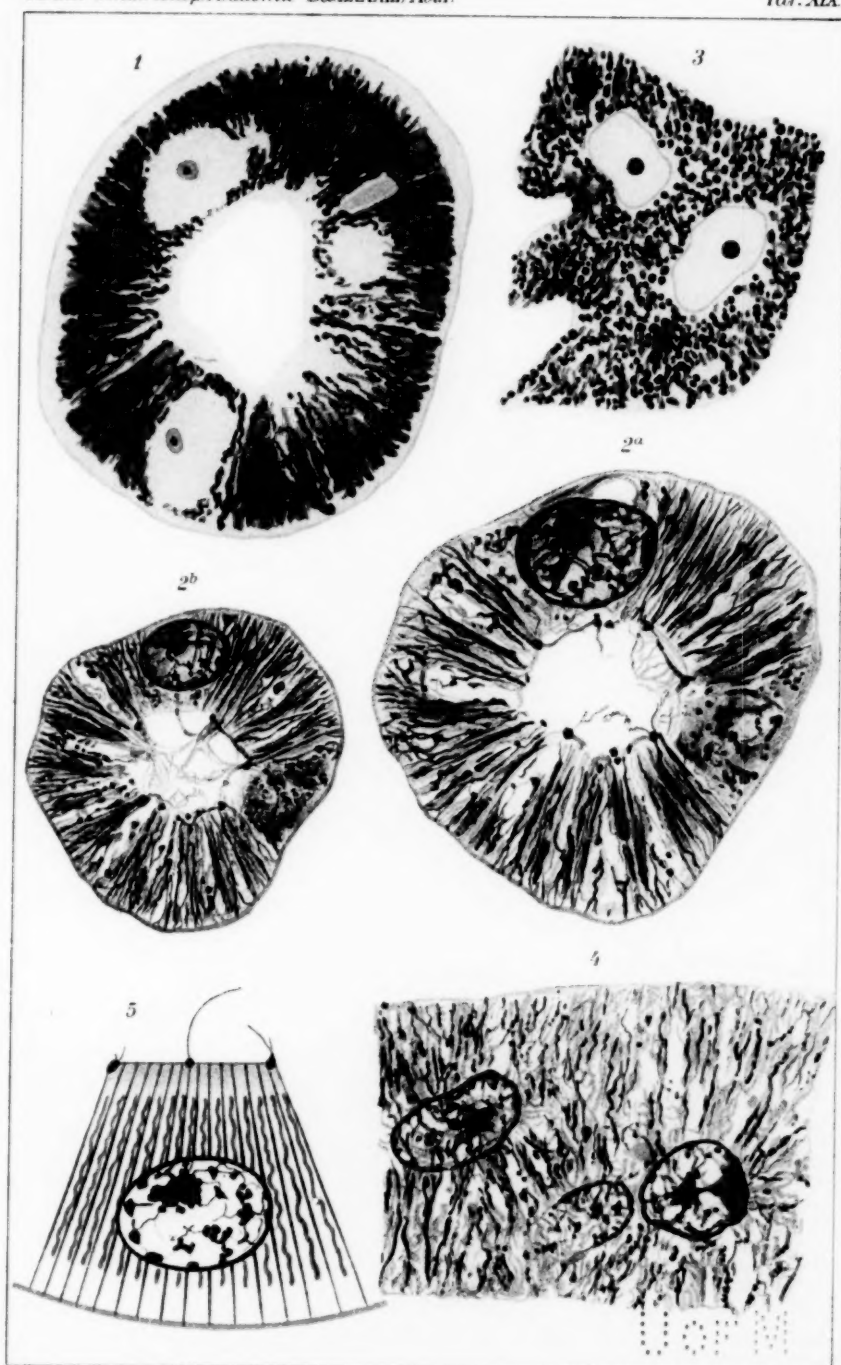


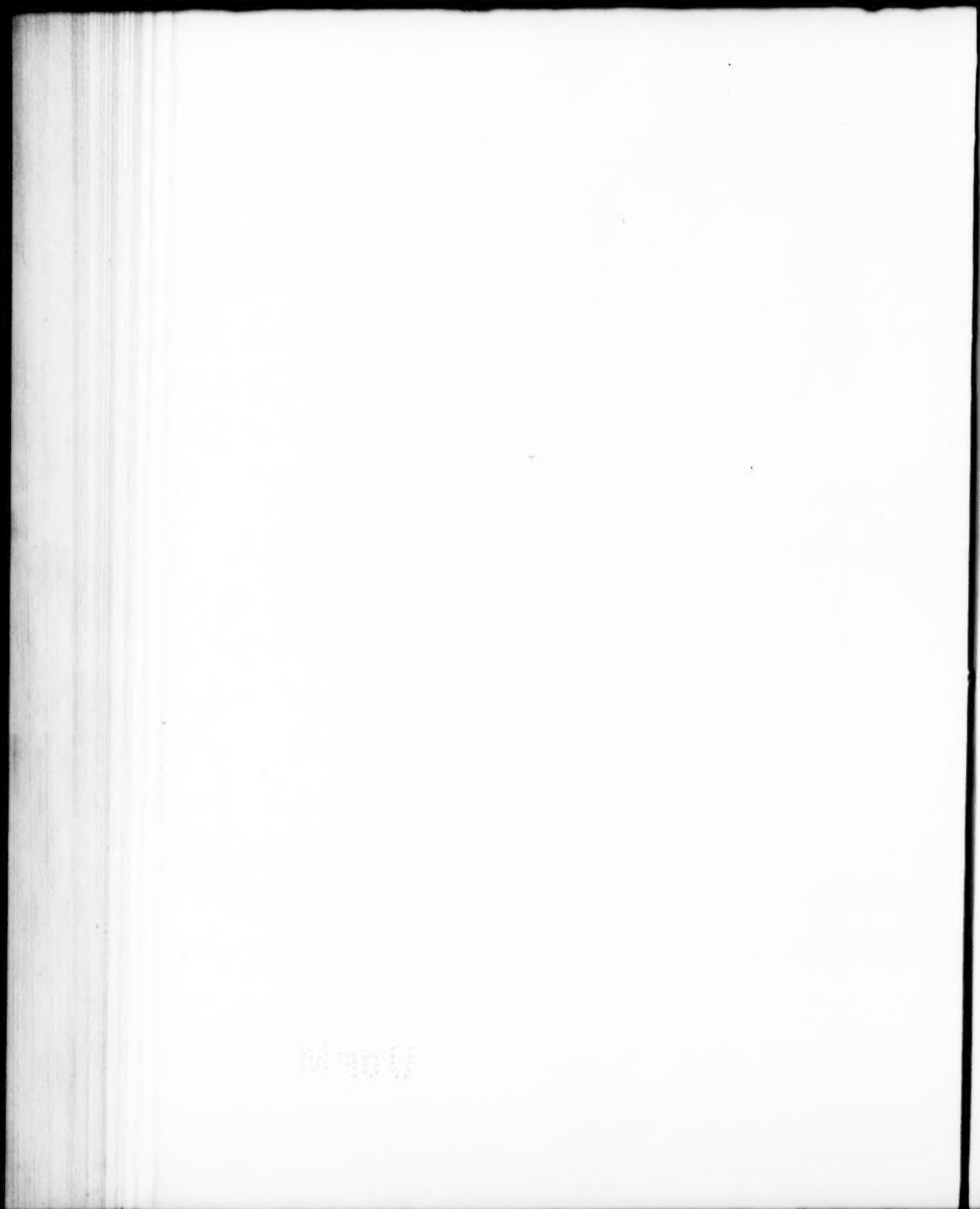


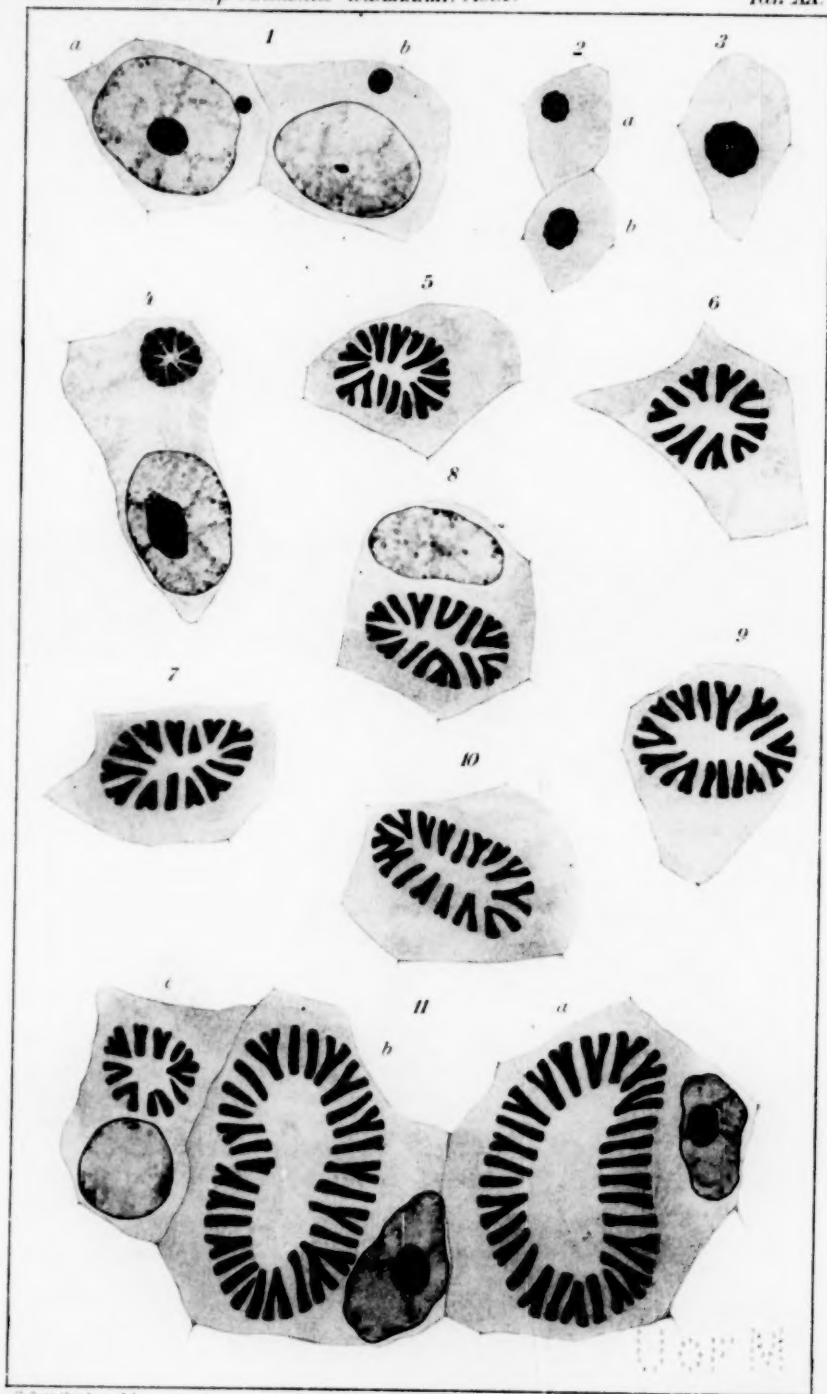




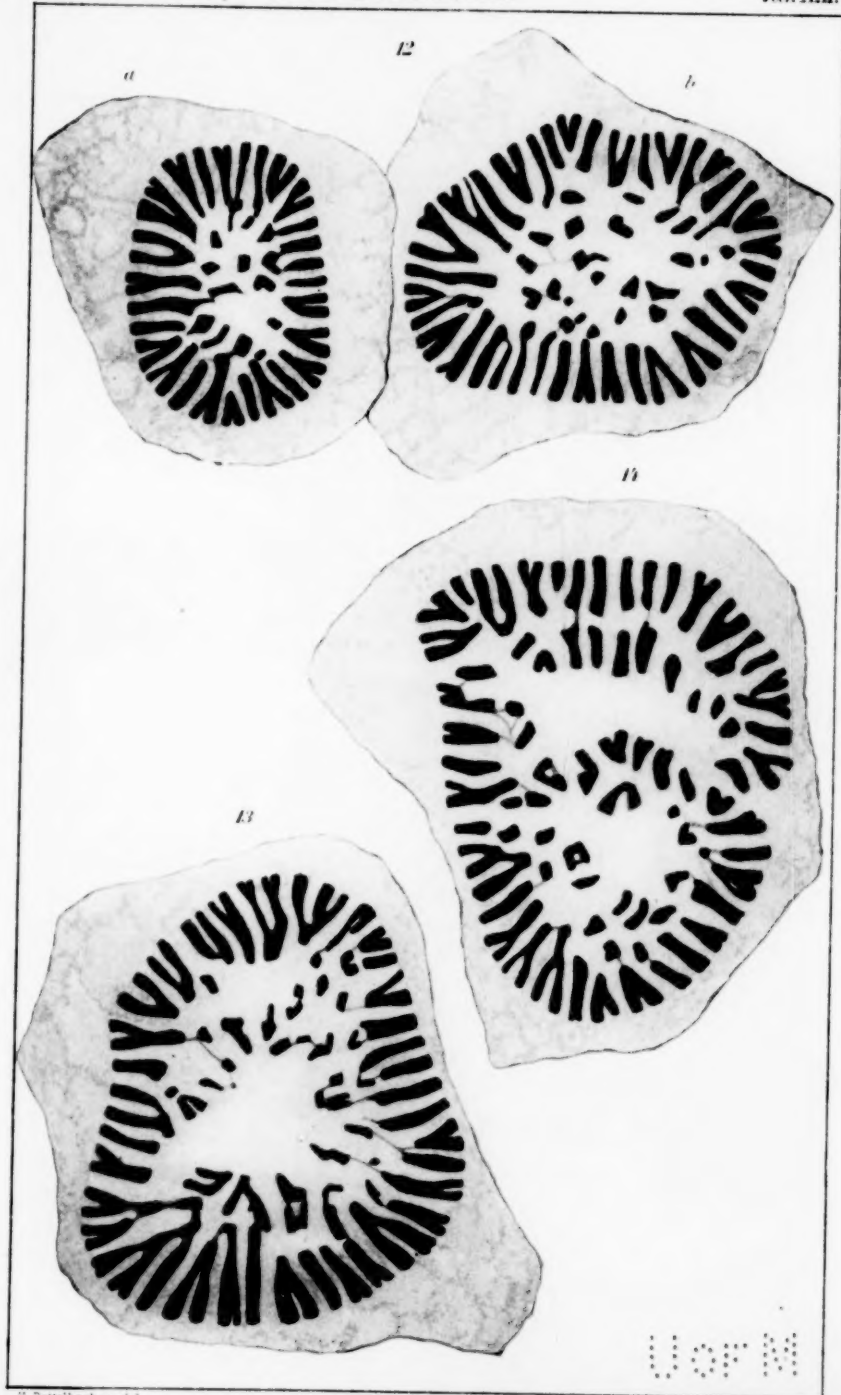
1770-1771







1950



U.S. 100

15



16



M70U

ARCHIV

für

Mikroskopische Anatomie

I. Abteilung

**für vergleichende und experimentelle
Histologie und Entwicklungsgeschichte**

II. Abteilung

für Zeugungs- und Vererbungslehre

herausgegeben

von

O. Hertwig und **W. Waldeyer**
in Berlin

Dreiundachtzigster Band

II. Abteilung

Mit 17 Tafeln und 69 Textfiguren

BONN

Verlag von Friedrich Cohen

1913

ARCHIV

Stichting voor de Geschiedenis

van de Nederlandsche
Indië

in de Nederlanden

in de Nederlanden

in de Nederlanden

in de Nederlanden

in de Nederlanden

in de Nederlanden

in de Nederlanden

in de Nederlanden

in de Nederlanden

Inhalt.

Abteilung II.

Erstes und zweites Heft. Ausgegeben am 22. Sept. 1913. Seite

- Die Oogenese des *Zoogonus mirus* Lss. Von Dr. F. Wassermann, Assistent am Anatomischen Institut München. (Aus dem Anat. Institut München. [Direktor Prof. Dr. J. Rückert.]) Hierzu Tafel I—IV und 43 Textfiguren 1
- Die Entwicklung von Forelleneiern nach Befruchtung mit radiumbestrahlten Samenfäden. Von Karl Oppermann. Hierzu Tafel V—VII und 10 Textfiguren 141

Drittes Heft. Ausgegeben am 25. Oktober 1913.

- Über die Spermio- und Oogenese der *Sclerostomum*-Arten des Pferdes unter besonderer Berücksichtigung der Heterochromosomenforschung. Von Kurt Kühnz. (Aus dem Biologischen Institut der Universität Berlin.) Hierzu Tafel VIII—X und 8 Textfiguren 191

Viertes Heft. Ausgegeben am 8. Dezember 1913.

- Beeinflussung der männlichen Keimzellen durch chemische Stoffe. Von Günther und Paula Hertwig. (Aus dem Anat.-biologischen Institut zu Berlin und der Zoologischen Station zu Neapel.) Hierzu Tafel XI, XII und 6 Textfiguren 267
- Die Entwicklung von Forelleneiern nach Befruchtung mit radiumbestrahlten Samenfäden. II. Teil. Das Verhalten des Radiumchromatins während der ersten Teilungsstadien. Von Dr. Karl Oppermann. Hierzu Tafel XIII und 2 Textfiguren 307
- Die Samenbildung bei den Enten. Von Karl Schöneberg. (Aus dem Anatomisch-biologischen Institut der Berliner Universität.) Hierzu Tafel XIV—XVII 324
- Literarisch-kritische Rundschau: Hartog, Mathematics and Mitosis 370

1782

Aus dem Anatomischen Institut München, Direktor Prof. Dr. J. Rückert.

Die Oogenese des *Zoogonus mirus* Lss.

von

Dr. F. Wassermann

Assistent am Anatomischen Institut München.

Hierzu Tafel I—IV und 43 Textfiguren.

Inhalt:	Seite
A. Einleitung	2
B. Material und Methoden	4
C. Die Normalzahl der Chromosomen	5
D. Oogonien	17
E. Die Oozyten-Entwicklung	18
I. Periode der Oozyten-Entwicklung bis zum Bukettstadium	19
a) Die Befunde	19
b) Bemerkungen zur Methode der Untersuchung	39
1. Die Erhebung der Befunde	39
2. Die Synapsisfrage	40
3. Begründung der Serierung	44
c) Die frühe Oogenese von <i>Fasciola hepatica</i> L.	49
d) Allgemeiner Teil	53
1. Die Entstehung der reduzierten Chromatinelemente	53
a) Der gegenwärtige Stand der Frage	53
β) Die Frage nach der Entstehung der reduzierten Elemente bei <i>Zoogonus mirus</i>	60
γ) Die Einwände gegen die Parasynthese im allgemeinen	76
δ) Der prinzipielle Unterschied zwischen Parasynthese und Metasynthese	88
2. Versuch einer Erklärung der während der frühen Oogenese beobachteten Chromatiumlagerungen	91
II. Periode der Oozyten-Entwicklung von der Auflösung des Buketts bis zur Prophase der I. Reifungsteilung	96
a) Befunde	96
b) Allgemeiner Teil	104
III. Periode der Oozyten-Entwicklung — die Reifungsteilungen	115
a) Befunde	115
1. Die Prophase der I. Reifungsteilung	115
2. Die I. Reifungsteilung	122
3. Die II. Reifungsteilung	125
b) Allgemeiner Teil	127
1. Die Frage nach der Kontinuität der Chromosomen	127
2. Das Reduktionsproblem	130

A. Einleitung.

Im Jahre 1905 veröffentlichte Goldschmidt (05) eine Arbeit über die Embryonalentwicklung und die Eireifung von *Zoogonus mirus*. Was die Oogenese dieses Trematoden betrifft, so beschränkte sich Goldschmidt auf die Untersuchung der Eier von dem Ende der Wachstumsperiode bis zum Abschluss der Reifung, die jüngeren Oozytenstadien aber hat er nicht genauer berücksichtigt. Das Resultat nun, zu welchem Goldschmidt gekommen ist, schien für die Reduktionsfrage von weittragender Bedeutung zu sein. Denn er glaubte hier einen Modus der Eireifung gefunden zu haben, der eine schematisch einfache Verwirklichung der Weismannschen Vorstellung von der Chromosomenreduktion darstellen würde. Seines offenbar primitiven Charakters wegen nannte Goldschmidt diesen Reduktionsvorgang den „Primärtypus“. Für ihn sei charakteristisch, dass die zehn oder zwölf Chromosomen von *Zoogonus mirus* in dieser Normalzahl in die erste Reifungsspindel eintreten und dass also die Bildung von bivalenten Elementen, die Pseudoreduktion, welche sonst die Erkenntnis des Reduktionsvorganges erschwert, unterbleibe. Die längsgespaltenen Chromosomen werden in der ersten Reifungsteilung äquationell halbiert, die zweite Reifungsteilung aber führe die zehn Stäbchen, deren jedes ein ganzes Chromosom repräsentiert, in zwei Gruppen auseinander. Hier wäre also die postulierte qualitative Reduktion, die Eliminierung ganzer Chromosomen aus dem Ei, verwirklicht.

Die Konstatierung des Primärtypus beruht, wie man sieht, auf der Übereinstimmung der in den Körperzellen des *Zoogonus* vorgefundenen Normalzahl der Chromosomen mit der Zahl der in die erste Reifungsteilung eintretenden Chromatinelemente. Diese Übereinstimmung konnten aber die späteren Untersucher des *Zoogonus* nicht auffinden und sie leugneten daher die Existenz des Primärtypus.

Die erste Nachprüfung erfuhr die Eireifung von *Zoogonus mirus* durch A. und K. E. Schreiner (08), welchen Goldschmidt auf ihr Ersuchen hin seine Präparate zur Verfügung gestellt hatte. Sie fanden wie Goldschmidt zwölf Chromosomen in der ersten Reifungsteilung, aber 24 in den somatischen Zellen. Daher mussten ihnen die Reifungsteilungs-Chromosomen bivalent erscheinen und sie schlossen aus gewissen Bildern der frühen

Gonozytogenese, ohne diese jedoch genau zu untersuchen, dass auch bei *Zoogonus*, wie bei allen von ihnen untersuchten Objekten, insbesondere bei den Spermatozyten von *Tomopteris*, die bivalenten Elemente der ersten Reifungsteilung auf dem Wege der „Parallelkonjugation“ gebildet würden. Die Oogenese des *Zoogonus* verlaufe daher nach dem von den Autoren für allgemein gültig gehaltenen „*Tomopteristypus*“.

Dieser Darstellung gegenüber hielt Goldschmidt (09) seinen Standpunkt mit Entschiedenheit aufrecht. Er ergänzte dabei seine früheren Darlegungen durch Beibringung neuer Bilder, aber auf die frühe Oogenese ging er auch dieses Mal nicht ein.

Wiederum an denselben Präparaten Goldschmidts, ja an den nämlichen Zellen, kam dann der dritte Untersucher, Grégoire (09), zu einer anderen, sowohl von der Goldschmidts als auch von der Schreiners abweichenden Anschauung. Er stimmte zwar hinsichtlich der Chromosomennormalzahl mit Goldschmidt überein, wenn er gleich nicht 10—12, sondern 10—14 Chromosomen in den somatischen Mitosen fand, konnte aber in den Stadien der Reifungsteilungen nur sechs bis sieben Elemente erkennen. Also stellte auch Grégoire eine die Existenz des Primärtypus ausschliessende Pseudoreduktion fest und auch er glaubte, wie A. und K. E. Schreiner, und gleichfalls ohne ein genaueres Studium der frühen Gonozytogenese vorgenommen zu haben, dass die bivalenten Elemente der ersten Reifungsteilung durch Parallelvereinigung je zweier Einzelchromosomen zustande kämen. Die Reifungsteilungen selbst aber verlaufen nach dem hetero-homeotypischen Schema, welches nach Grégoire den für das Pflanzen- und Tierreich allgemein und allein gültigen Modus der Reduktion darstellt.

Bei dieser Sachlage und in Rücksicht auf den gegenwärtigen Stand der die Geschlechtszellen-Entwicklung betreffenden Fragen musste eine erneute Vornahme der Eireifung des *Zoogonus mirus* von dem Streben geleitet sein, ein möglichst abgerundetes Bild der Entwicklung der Eizelle, wenigstens von der letzten Oogonienteilung bis zur zweiten Reifungsteilung, zu liefern. Durch die Verlegung des Schwerpunktes der Untersuchung in die frühe Oogenese wurde es möglich, die Entstehung der Elemente der ersten Reifungsteilung aufzuklären und so die Frage nach der Existenz des Primärtypus, die vorher ausschliesslich auf

Grund der beiden Reifungsteilungen behandelt worden war, auf eine breitere Basis zu stellen. Dies war um so erspriesslicher, als das Studium der frühen Oogenese zu besonders klaren Resultaten führte, während die beiden Reifungsteilungen unseres Objektes einer genauen Analyse so wenig zugänglich sind, dass auf sie allein gerichtete Betrachtungen weder hinreichen, die schwebende Streitfrage vollständig zu entscheiden, noch auch geeignet sind, die an die Reifungsteilungen sich anknüpfenden Fragen zu fördern.

Über die Eireifung anderer Trematoden liegen Untersuchungen von Cary (09), Goldschmidt (02, 08), v. Kemnitz (13), Schellenberg (08) und Schubmann (05) vor. Die Resultate derselben werden an den einschlägigen Stellen mit den unsrigen verglichen werden. Besonders eingehende Berücksichtigung wird die Arbeit Schellenbergs erfahren, weil dieser Autor bei seinem Objekt neben dem gewöhnlichen pseudoreduktionellen Typus der Reifungsteilungen gelegentlich auch den Primärtypus auftreten sah und ferner, weil sich herausgestellt hat, dass die die frühe Oogenese betreffenden Befunde Schellenbergs sich in weitgehender Weise mit den unsrigen zur Deckung bringen lassen.

Herr Prof. Dr. J. Rückert hat die vorliegende Untersuchung veranlasst und durch seinen Rat und seine Hilfe in reichstem Maße gefördert. Es ist dem Verfasser ein Bedürfnis, seinen hochverehrten Lehrer und Chef auch an dieser Stelle hiefür des aufrichtigen Dankes zu versichern.

B. Material und Methoden.

Der Trematode *Zoogonus mirus* wurde von Loos im Enddarm eines den Golf von Triest bewohnenden Fisches, des zu den Labriden gehörigen *Labrus merula*, entdeckt. Loos (01) und später Goldschmidt (02) haben die charakteristischen anatomischen Merkmale dieses Parasiten so genau dargestellt, dass man ihn nicht mit anderen Trematoden verwechseln kann.

Das Material zu dieser Untersuchung wurde im Herbst 1910 und im Frühjahr 1911 in Triest gesammelt. Für die Unterstützung, die dem Verfasser dabei von seiten des Direktors der dortigen K. u. K. Zoologischen Station, Herrn Prof. Dr. J. Cori, gewährt wurde, sei auch hier der verbindlichste Dank ausgesprochen.

Die Wirtstiere wurden sowohl im Golf von Triest selbst wie auch an verschiedenen Punkten der Küste Istriens, so bei Umago, Cittanuova und Pola, gefangen. Im ganzen gelangten 96 Fische in unsere Hände; von diesen bargen 26 die gesuchten Parasiten. Die Anzahl der in einem Enddarm befindlichen Trematoden schwankte sehr; man konnte nur einige wenige antreffen, hie und da aber waren auch etwa 100 und mehr vorhanden. In dem Darmbrei sind sie mit freiem Auge gerade noch erkennbar. Um uns bei jedem Exemplar davon zu überzeugen, dass es auch wirklich der gesuchten Spezies angehörte und um nicht ein oder das andere abgestorbene Tier zur Untersuchung zu bekommen, haben wir uns bei der Entnahme der Objekte aus dem Darmbrei stets der Lupe bedient. Die Konservierung geschah durch Sublimat-Eisessig (5proz.) und die Gemische von Flemming, Zenker, Gilson, Carnoy, Brasil und Bouin. Besonders das letztgenannte gab ausgezeichnete Resultate. Die Färbung (Hämatoxylin nach Hansen, ev. mit Eosin oder Orange G, Eisenhämatoxylin nach Heidenhain, Boraxkarmin, Safranin, Methylgrün) wurde gewöhnlich erst am Paraffinschnitt, dessen Dicke entsprechend der Grösse der Eier gewöhnlich 10 μ betrug, vorgenommen, einzelne Exemplare von *Zoogonus* wurden aber auch in toto mit Boraxkarmin behandelt. Dies geschah, um durch Zerzupfen derselben Totalpräparate der Eier anfertigen zu können. Es wird sich später ergeben (S. 123), dass die Totalpräparate den in Paraffin eingebetteten und mikrotomierten Objekten in bezug auf die Klarheit der Reifungsteilungsstadien, denn nur für diese kommen sie in Betracht, nicht wesentlich überlegen sind.

Bei der Untersuchung der frühen Oozytenstadien war die Benutzung monochromatischen Lichtes von grossem Vorteil.

C. Die Normalzahl der Chromosomen.

In der Kontroverse über die Eireifung des *Zoogonus mirus* zwischen Goldschmidt, Schreiners und Grégoire spielen die sich widersprechenden Angaben über die spezifische Chromosomen-Normalzahl eine grosse Rolle (s. S. 2). Deswegen war bei einer erneuten Untersuchung des strittigen Objekts gerade auf diese Verhältnisse besonders zu achten, und sie müssen auch in grösserer Breite, als dies sonst üblich ist, abgehandelt werden.

Die Gewebszellen des Zoogonus findet man nur selten in Teilung begriffen und noch seltener ist es bei der Kleinheit dieser Zellen möglich, eine Zählung der Chromosomen vorzunehmen. Dies gilt auch für die relativ häufigeren Mitosen im sogenannten Dotterstock. Aus diesem Grunde führen wir nur eine einzige dem Zwischengewebe angehörige Teilungsfigur hier vor (Fig. 1); es handelt sich um die Polansicht einer Äquatorialplatte, in welcher die Chromosomen radiär angeordnet sind. Die Analyse dieses Bildes wird hauptsächlich durch die Übereinanderlagerung wahrscheinlich dreier Chromosomen erschwert, während alle anderen Chromosomen, gut gegeneinander abgrenzbar, annähernd in einer Ebene liegen. Mit einiger Wahrscheinlichkeit sind hier zwölf Chromosomen zu zählen. Klar zu erkennen sind zehn Stäbchen und unter dem einen in der Zeichnung links unten von der Zellmitte gelegenen und zentral weit vorgeschobenen befinden sich, wie es scheint, noch zwei andere sich überlagernde Chromosomen, das elfte und zwölfte. Jedenfalls sind in dieser Äquatorialplatte nicht nur zehn Chromosomen vorhanden, wie es nach Goldschmidts ursprünglicher Angabe der Fall sein müsste; es sind aber nicht viel mehr als zehn und niemals könnte es gelingen, hier entsprechend der Angabe von Schreiners, zwanzig und mehr Chromosomen herauszubringen.

Die beste Aussicht auf eine sichere Ermittlung der Chromosomenzahl des Zoogonus mirus bieten die Mitosen der in Furchung begriffenen Eier und der embryonalen Zellen, die man im Uterus der Tiere, wo die Entwicklung der Nachkommen-schaft bis zum Larvenstadium gedeiht, in grosser Anzahl findet. Allerdings kann man nur die Prophasen und Metaphasenstadien dieser Mitosen zur Untersuchung heranziehen und auch diese nur, wenn sie in günstiger Ansicht vorliegen und wenn sich die ganze Teilungsfigur im Schnitt befindet. So kommt es, dass auch bei einem relativ reichen Material die Ausbeute an klaren Bildern, die zur Entscheidung der schwebenden Frage herangezogen werden können, recht gering ist. Dieser Mangel fällt um so mehr ins Gewicht, als, wie wir sehen werden, auch unter den Bildern, welche von der Diskussion nicht ausgeschlossen werden durften, ein beträchtlicher Teil nicht eindeutig analysiert werden kann. Es ist unseres Erachtens von Wert, festzustellen, dass aus den angeführten Gründen eine Untersuchung über die Chromosomen-

zahl, wenn sie in den einzelnen Fällen noch so gewissenhaft ausgeführt sein mag, und für die Einzelfrage, wie die vorliegende, auch von entscheidender Bedeutung sein kann, im Hinblick auf allgemeine Gesichtspunkte meistens recht unzulänglich bleiben muss.

Von den nun zu betrachtenden Embryonalzellenmitosen führen wir zunächst in Fig. 2 eine Äquatorialplatte in nahezu reiner Polansicht vor. Die Chromosomen sind hier offenbar schon in ihre beiden Tochterhälften zerlegt. Bei einer Anzahl derselben gelingt es nämlich, die übereinander gelegenen und anscheinend kongruenten Spalthälften zu sehen. Wo nur ein Stäbchen wahrnehmbar ist, muss angenommen werden, dass das darunter gelegene zweite von dem allein sichtbaren oberen vollständig gedeckt wird. Diese Überlegung schliesst hier mit Sicherheit eine Täuschung aus, der man bei der Zählung von Metaphasenchromosomen unter Umständen anheim fallen könnte, dass man nämlich die Tochterchromosomen, wenn sie etwa schon voneinander abgerückt wären, für je ein ganzes Chromosom hielte und so mehr Chromosomen zählte, als in Wahrheit vorhanden sind. Die Mehrzahl der vorliegenden Stäbchen, von denen einige von der bei *Zoogonus* oft zu beobachtenden Keulenform sind, liegen in radiärer Anordnung zum Mittelpunkt der Äquatorialplatte. Eines liegt rechts aussen; an diesem fällt auf, dass das nach unten gekehrte Ende gegen die Hauptmasse durch eine Einschnürung oder einen Einschnitt abgesetzt ist. Dieser Prozess ist hier aber keineswegs so weit gediehen, dass man in Zweifel darüber geraten könnte, ob nicht etwa zwei mit ihren Enden zusammenstossende Chromosomen vorliegen möchten. Aber man muss die Möglichkeit im Auge behalten, dass in einzelnen Fällen eine solche Segmentierung eines Chromosoms, die auch bei anderen Objekten beobachtet worden ist, und die ein durch die Fixierung erzeugtes Kunstprodukt sein dürfte, zu falschen Zählungsergebnissen Veranlassung geben kann. Zwischen den zentralen Enden der radiären Chromosomen sind in dem vorliegenden Fall noch zwei ganz kurze Doppelstäbchen eingelagert. Solche in das Zentrum des Muttersterns vorgeschobene kurze Chromosomen sind für unser Objekt charakteristisch. Und auch Schreiners (1908) stellen fest, es seien „immer einige ganz kleine Chromosomen vorhanden, die in der Äquatorialplatte zwischen den dicht gedrängten zentralen Enden der radiär angeordneten längeren Chromosomen gelegen

sind, und die sich deshalb nur schwer zählen lassen“. Zu diesem Punkte ist aber zu bemerken, dass nur dann kleine Chromosomen als solche angesprochen werden dürfen, wenn jeder Zweifel darüber ausgeschlossen ist, dass es sich nicht um abgeschnürte Enden der langen Chromosomen handle. Wir werden später zeigen (Fig. 9), dass eine Verwechslung dieser Art wohl möglich ist, und wir halten dafür, dass Schreiners auch deswegen, weil sie mit der Annahme kleiner zentral gelegener Chromosomen nicht vorsichtig genug gewesen sind, zu ihren unglaublich hohen Zahlen gekommen sein mochten. In der vorliegenden Äquatorialplatte sind die beiden kurzen Chromosomen jedoch so gut abgegrenzt, dass ihre Selbstständigkeit ausser Frage steht. Die Zählung der Chromosomen dieser Teilungsfigur führt zu dem unanfechtbaren Resultat, dass deren zwölf vorhanden sind.

Ebenfalls zwölf Chromosomen stellen wir in einer weiteren Embryonalzelle, Fig. 3, fest. Die Chromosomen liegen hier noch nicht in einer Ebene, sondern überlagern sich zum Teil. Ein solcher Umstand erschwert jedoch viel weniger die Zählung als die jeweilige Wiedergabe der Chromosomen, von der es wünschenswert wäre, dass sie eine Kontrolle unserer Befunde ermöglichte. So ist hier zu der Zeichnung eigens zu bemerken, dass das auffallend dünne Chromosom, welches von rechts oben sich gegen die Mitte der Figur hereinzieht, einheitlich nach links unten weiter geht, bis es zu dem nach rechts abgebogenen Ende des von links unten zur Mitte gestellten anderen gelangt. Da es von den zwei oberflächlichen mit ihren Enden nahe zusammentretenden Stäbchen überlagert wird, ist auf der Zeichnung seine Einheitlichkeit nicht ohne weiteres ersichtlich. Einige Schwierigkeit könnte bei dieser Figur auch die Frage machen, ob die beiden durch ihre Schleifenform auffallenden Elemente, von denen das eine mit dem nach oben sehenden kürzeren Schleifenschenkel rechts, das andere, dessen kürzerer Schenkel nach unten gerichtet ist, links liegt, einheitliche Chromosomen sind, oder ob hier selbstständige mit ihren freien Enden bloss zusammenstossen. Dieselbe Frage könnte man ja auch erheben bezüglich der beiden in ihrer Länge nicht erheblich voneinander abweichenden rechts unten befindlichen Chromosomen, deren unteres von einem kurzen, plumpen, oberflächlichen überlagert wird. Hier sind in der Zeichnung zwei deutlich gegeneinander abgesetzte und in verschiedenen Ebenen

gelegene zentrale Enden angegeben, während die erwähnten schleifenförmigen Chromosomen als einheitliche Gebilde dargestellt sind. Wir wollen gelegentlich dieses Beispiels, welches zeigt, dass sowohl schleifenförmig abgebogene einheitliche, als auch mit ihren zentralen Enden zusammenstossende Einzelchromosomen vorkommen können, bemerken, dass wir die Frage, ob in einem solchen Fall ein einheitliches oder zwei Chromosomen angenommen werden müssen, jedesmal mit grösster Gewissenhaftigkeit geprüft haben. Man wird sehen, dass wir diese Frage hie und da offen lassen müssen und dass wir, je nachdem zwischen den beiden Komponenten einer solchen suspekten Schleife ein Spalt nachgewiesen werden konnte oder nicht, einmal in diesem und dann wieder in dem anderen Sinne entscheiden zu müssen glaubten. Bei Goldschmidt aber finden wir die abgebogenen einheitlichen Chromosomen sehr häufig und wir können das Bedenken nicht unterdrücken, dass Goldschmidt der Möglichkeit der blossen Konvergenz zweier Chromosomen vielleicht nicht genügend Rechnung getragen hat. An Präparaten, die mit Eisenhämatoxylin gefärbt sind, können übrigens sehr leicht mit ihren Enden nahe beisammen liegende Chromosomen eine einheitliche zweiseitenklige Schleife vortäuschen. Auf diesen Nachteil, den die Eisenhämatoxylinfärbung für die Chromosomenzählung mit sich bringt, hat bereits Grégoire (09) in der Diskussion über die Chromosomenzahl von *Zoogonus* hingewiesen. Aus diesem Grunde haben wir es vorgezogen, unsere Chromosomenzählungen in der Regel an Objekten auszuführen, die mit Delafield'schem Hämatoxylin gefärbt waren.

In Anbetracht der besonderen Schwierigkeiten, die sich, wie wir gesehen haben und an späteren Beispielen noch zeigen werden, der gegenseitigen Abgrenzung der einzelnen Chromosomen entgegenstellen, wenn dieselben ihre definitive Form erreicht haben, erschien es wünschenswert, auch frühe Prophasen der Embryonalzellenmitosen zu untersuchen. Ein solches Stadium eines segmentierten Knäuels stellt Fig. 4 dar. Freilich erfordert es viel Mühe, die den Kernraum durchziehenden, sich vielfach überkreuzenden und in diesem Zustand nur schwach gefärbten Fäden zu verfolgen. Aber in günstigen Fällen kommt man hier zu ganz sicheren Resultaten. So sind in dem vorliegenden Kern neben dem kleinen zentral gelegenen Nukleolus in Übereinstimmung mit den bisher gezeigten Fällen gleichfalls zwölf Schleifen zu zählen. Wie in den

späten Prophasen und Äquatorialplatten die definitiven Chromosomen von verschiedener Länge sind, so kann man auch hier zwei ganz besonders kurze Fäden zeigen, die links oben gelegen sind, und zwei besonders lange, von denen das eine S-förmige rechts und nahe der Kernmembran und das andere spiralig eingerollte am unteren Kernpol sich befindet.

Der nächste in der Fig. 5 dargestellte Fall betrifft die Äquatorialplatte einer Furchungsmitose, deren Chromosomen sämtlich in einer Ebene gelegen und radiär angeordnet sind. Diese Teilungsfigur, welche vollständig in dem betreffenden Schnitt gelegen ist, scheint für die Chromosomenzählung ganz besonders günstig zu sein. Sonderbarerweise findet man nun hier nicht, wie die bisher angeführten Beispiele es erwarten liessen, zwölf Chromosomen und auch nicht zehn, welche Anzahl die meisten von Goldschmidt (05, 09) aufgezeichneten Äquatorialplatten enthalten, sondern man zählt deren elf. Dieses unerwartete Zählungsergebnis lässt sich nur dann zugunsten der Goldschmidtschen Normalzahl abändern, wenn man die beiden oben gelegenen, mit den zentralen Enden nahe zusammenstossenden Elemente als ein einziges umgebogenes auffassen wollte. In den Bildern Goldschmidts (09), z. B. in Fig. 5 oder 10 (Taf. 24) sind solche schleifenförmige Chromosomen mit etwa gleich langen Schenkeln zu sehen. Indessen konnten wir uns in diesem Falle zu einer solchen Auffassung nicht entschliessen und müssen daher die Tatsache, dass hier elf Chromosomen vorliegen, bestehen lassen.

Das nächste Bild, Fig. 6, stellt einen analogen Fall dar, indem wir hier in anscheinend ganz klarer Weise 13 Chromosomen zählen. Freilich könnte auch hier die Frage erhoben werden, ob nicht die zwei oben gelegenen und rechtwinklig gegeneinander gestellten Stäbe, von denen der rechte deutlich längsgespalten ist, nicht etwa die beiden Schenkel eines Elementes darstellen. Aber auch hier wollten wir lieber den ungewöhnlichen Befund einer ungeraden Chromosomenzahl registrieren, als die Tatsachen einer Auffassung unterordnen.

Dieser Fall, bei dem wir mehr als zwölf Chromosomen feststellen mussten, soll uns zu der Äquatorialplatte der Fig. 7 überleiten, in der wir ganz einwandfrei 14 Chromatinteile zählen können. Dies ist wenigstens das Resultat einer unvoreingenommenen Feststellung, an der an und für sich nicht zu zweifeln ist. Auch hat

ja Grégoire (09) gleichfalls sowohl 12 als auch 14 Chromosomen bei *Zoogonus* gefunden. Anzweifeln liesse sich dieser vorliegende Befund nur durch die Vermutung, dass etwa unter dem Einfluss der Fixierung bei einzelnen Chromosomen eine Zerschnürung stattgefunden hätte, eine Möglichkeit, auf die bereits hingewiesen wurde. Insbesondere die beiden nahezu gleich langen, mit ihren etwas aufgebogenen Enden aneinanderstossenden Stäbe, die sich im rechten oberen Quadranten des Zellenquerschnittes befinden, könnten zu dieser Vermutung Anlass geben. Es wird vielleicht zunächst befremden, dass wir der Frage, ob wirklich 14 Chromosomen neben der zunächst ermittelten Zwölfzahl vorkommen, so skeptisch gegenüber stehen. Weitere Darlegungen werden dies jedoch begreiflich machen. In der vorliegenden Fig. 7 nur zehn Chromosomen festzustellen, wäre aber durchaus unmöglich. Selbst wenn man die oben erwähnten beiden Chromosomen als ein geknicktes und die links oben von ihnen gelegenen beiden, bogenförmig gegeneinander geneigten und endlich die beiden senkrecht unter den oben genannten, übereinander gelegenen als je ein hakenförmiges Chromosom ansprechen wollte, wozu aber nur unter gewissen in der Fixierung oder Färbung gelegenen und hier nicht gegebenen Umständen Veranlassung bestände, auch dann käme man erst auf elf Elemente. Andererseits ist es bei diesem Beispiel, ebenso wie bei allen bisher gezeigten, als völlig ausgeschlossen zu erachten, etwa 24 Chromosomen herauszufinden. Wir sehen nicht einmal die Möglichkeit, zu erklären, auf welcher irrtümlichen Weise man in unseren Fällen zu dieser hohen von Schreiners (08) gefundenen Chromosomenzahl gelangen könnte.

Auch die nächste Äquatorialplatte, Fig. 8, ist nicht dazu geeignet, volle Sicherheit über das wirkliche Vorkommen von 14 Chromosomen zu geben, obwohl auch hier die Summe sämtlicher in der Zeichnung sichtbarer Gebilde die Zahl 14 ergibt. Von dem runden Chromatinkörper nämlich, der oben links von dem terminal längsgespaltenen Chromosom liegt, ist es zweifelhaft, ob er nicht der Rest des Nukleolus ist. v. Schustow (12) hat gelegentlich noch in den Metaphasenstadien der Wurzelspitzenzellen von *Allium cepa* mittels der spezifischen Färbung einen Nukleolus feststellen können, der bei gewöhnlicher Kernfärbung sicher für ein Chromosom gehalten würde. Dann bestehen Bedenken über die Natur des einheitlich gezeichneten haken-

förmigen Chromosoms, welches im Zentrum des Sternes zu sehen ist. Es ist nicht mit Sicherheit zu entscheiden, ob hier nicht zwei kleine Chromosomen vorliegen.

Wenn man ferner die Äquatorialplatte der Fig. 9 betrachtet, so sieht man neben den 13 grossen und bis auf das längsgespaltene links oben gelegene ¹⁾ durchaus radiär angeordneten Chromosomen noch drei kleine Elemente in der Mitte; zählt man diese als vollwertige Chromosomen mit, so ergeben sich 16 Elemente. Wir möchten es bei der auffallenden Kleinheit besonders zweier dieser Gebilde nicht für wahrscheinlich halten, dass sie sämtlich als Chromosomen anzusprechen sind, aber eine Entscheidung über die wirkliche Chromosomenzahl ist eben auch hier nicht zu treffen. Man kann lediglich sagen, dass deren 12—14 vorhanden sind.

Zu der sicheren Konstatierung von 14 Chromosomen gelangen wir dagegen bei der Analyse der Äquatorialplatte, welche in Fig. 10 wiedergegeben ist. Hier kommt die Möglichkeit, dass je zwei mit ihren zentralen Enden einander zugeneigte Stäbe in Wirklichkeit als einheitliche umgebogene aufzufassen seien, gar nicht in Betracht. Die Chromosomenenden sind ebenso deutlich wie auf der Zeichnung voneinander getrennt.

Im Anschluss an diese Figur wollen wir noch einer Feststellung des Ehepaares Schreiner (08) in bezug auf die Chromosomen bei *Zoogonus* gedenken. Die Autoren sagen nämlich: „In allen Mitosen, die uns klar zur Ansicht gekommen sind, sowohl in Embryonalzellen, wie in Oo- und Spermatogonien (nur mit Ausnahme der ersten Furchungsmitosen und selbstverständlich der Reifungsmitosen), zeigen nun bei *Zoogonus* die Chromosomen eine ausgeprägte paarige Gruppierung. Die Paarlinge sind von gleicher Länge und ihre zentralen Enden liegen einander ganz nahe (vgl. l. c. Fig. 26, wo die Einstellung der Chromosomen in die Teilungsebene jedoch noch nicht zu Ende gebracht ist).“ Wir glauben nicht, dass ein Betrachter unserer Figuren aus ihnen eine Bestätigung dieser von Schreiners hervorgehobenen Beziehung zwischen je zwei Chromosomen wird herauslesen können. Allerdings konvergieren, wie wir oft betont haben, sehr häufig je zwei Chromosomen mit ihren zentralen Enden. Diese weit-

¹⁾ Dieses Chromosom liegt als einziges in einem vorhergehenden Schnitt durch die vorliegende Zelle. In diesem einen Fall wurde, da hier ein Irrtum unmöglich erschien, eine Kombination zweier Schnitte vorgenommen.

gehende Annäherung tritt aber anscheinend regellos zwischen einem oder mehreren Chromosomenpaaren einer Äquatorialplatte auf und man kann darin doch nicht den Ausdruck einer besonderen Beziehung zwischen den betreffenden Chromosomen sehen. Dazu kommt noch, dass solche „Paarlinge“ nicht, wie Schreiners es gesehen haben wollen, von gleicher Länge sind, sondern dass sie, wie die Fig. 9 und 10 zeigen, von recht verschiedener Grösse sein können.

Eine Frage, die von der eben besprochenen verschieden ist, ist aber die, ob die Chromosomen der einzelnen Teilungsfiguren, abgesehen von ihren gegenseitigen Lagebeziehungen, etwa in ihren Grössenverhältnissen konstante relative Maße aufweisen. Dass dem vielleicht so sein könnte, erscheint nicht ausgeschlossen, wenn man die Chromatinfäden des Prophasenknäuels der Fig. 4 sowie die Chromosomen der von den Embryonalzellenmitosen zuerst gezeigten Äquatorialplatte (Fig. 2) hinsichtlich ihrer Länge untersucht. Man kommt dabei, wie die nebenstehenden, die Chromosomenlängen veranschaulichenden Textfig. 1 und 2 zeigen,

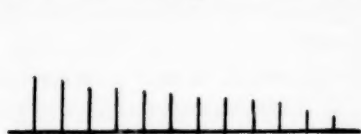


Fig. 1.

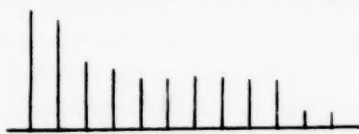


Fig. 2.

zu dem Ergebnis, dass in beiden Fällen je ein Paar Chromosomen durch besondere Länge und je ein Paar durch besondere Kürze sich von den anderen unterscheiden, die ihrerseits wieder zu Paaren von annähernd gleicher Länge zusammengeordnet werden können. An die Möglichkeit konstanter relativer Chromosomengrössen in unserem Fall zu denken, lag um so näher, als, wie wir später zeigen werden, auch unter den reduzierten Chromatinschleifen der Oozyten im Bukettstadium regelmässig ein langes und ein kurzes Chromosom unter den anderen auffällt. Aber abgesehen davon, dass der Versuch, bei den anderen Mitosen ebenfalls gleich lange Chromosomen festzustellen, kein positives Ergebnis zeitigt, ist das vorliegende Material zu klein und, wie aus dem bisher Mitgeteilten hervorging, vor allem zu arm an wirklich klaren Stadien, als dass es eine genügend sichere Basis für eine solche Untersuchung sein könnte.

Zu der Frage nach der spezifischen Chromosomenzahl bei *Zoogonus mirus* zurückkehrend, fassen wir zunächst unsere Befunde kurz zusammen. Wir können in einigen Fällen mit Sicherheit zwölf Chromosomen zählen. Zu dieser Kategorie von Mitosen gesellen sich dann noch die in den Fig. 13—16 wiedergegebenen Oogonien-Teilungen, bei denen ebenfalls zwölf Chromosomen vorhanden sind. In zwei Fällen mussten wir uns mit der Feststellung von 11 resp. 13 Chromatinteilen zufrieden geben. Wir können aber in Anbetracht der möglichen Fehlerquellen nicht glauben, dass diesen Teilungsfiguren mit anscheinend ungeraden Chromosomenzahlen eine Bedeutung zukomme. Dann besprachen wir Beispiele von Mitosen, die zwar die Annahme, es könnten bei ihnen 14 Chromosomen vorliegen, sehr wahrscheinlich machten, die aber nicht ganz eindeutig analysiert werden konnten. Schliesslich zeigten wir aber doch eine Äquatorialplatte, in der ganz sicher 14 Chromosomen liegen. Wiederholt hatten wir Gelegenheit, zu betonen, dass so hohe Chromosomenzahlen, wie sie von A. und K. E. Schreiner mit erstaunlicher Sicherheit zum Teil an denselben Mitosen, an denen Goldschmidt weniger als die Hälfte gezählt hatte, festgestellt worden sind, unmöglich vorhanden sein können. Bedenkt man, dass es lediglich diese irrtümlichen Zählungen waren, welche das Ehepaar Schreiner, das ja hinsichtlich der in die erste Reifungsteilung eintretenden Chromosomen mit Goldschmidt übereinstimmte, zur Ablehnung des Primärtypus der Reduktion führten, so begreift man, warum Goldschmidt dieser „Widerlegung“ gegenüber mit solcher Entschiedenheit auf seinem Standpunkt beharren konnte. Die von Goldschmidt (05, 09) als die typische angegebene Zehnzahl der Chromosomen, neben der er zufolge von Befunden an Stadien der II. Reifungsteilung auch die Zwölfzahl als Variation für möglich hält, konnten wir freilich ebensowenig finden. Nun ist ja für eine Reihe von Bildern Goldschmidts (09), die wie die Fig. 10, 16, 20 b nach seiner Auffassung mit unbestreitbarer Sicherheit genau zehn Chromosomen erkennen lassen, von Grégoire (09) festgestellt worden, dass auch in diesen Fällen mehr als zehn, meistens zwölf Chromosomen gegeneinander abgegrenzt werden können. Bemerkenswert ist auch, dass es unter den Dokumenten, die Goldschmidt (09) zur Sicherstellung seiner Normalzahl vorführt und die den Zeichnungen nach alle diesen Zweck in gleich einwandfreier Weise zu erfüllen scheinen, zwei,

durch die Fig. 5 und 8 repräsentierte gibt, von deren Entzifferung ein Mikroskopiker wie Grégoire glaubte absehen zu sollen, weil dabei kein hinreichend sicheres Resultat erzielt werden könnte (Grégoire, l. c., S. 253). Immerhin wollte Grégoire das gelegentliche Vorkommen der Zehnzahl nicht leugnen und man wird angesichts von Bildern, wie sie in den Fig. 7 a und b von Goldschmidt (09) niedergelegt sind, geneigt sein, diesen Standpunkt zu teilen. So können wir unter Einrechnung aller beobachteten und von Goldschmidt und Grégoire mitgeteilten Fälle der Ansicht des letztgenannten beitreten, dass die Chromosomenzahl von *Zoogonus* 10—14 betrage.

Dieses Resultat ist allerdings kein befriedigendes im Hinblick auf das Gesetz der Konstanz der Chromosomenzahl. Aber es ist bekanntlich auch kein ungewöhnliches, sondern man begegnet sogar in der Regel derartig unbestimmten Angaben über die Chromosomenzahl der jeweils untersuchten Arten. Dafür liessen sich Beispiele in grosser Zahl anführen. So entnehmen wir der Zusammenstellung, die M. Athias (1912) über die bei Säugetieren ermittelten Chromosomenzahlen gibt, dass nicht nur die Angaben verschiedener Untersucher über ein und dasselbe Objekt differieren, sondern dass die einzelnen Autoren selbst bei ihren Zählungen zu Resultaten von beträchtlicher Schwankungsbreite kamen; Athias z. B. findet bei *Eliomys querqus* 16—32 Chromosomen. Aber auch wenn die Chromosomenzahl gering ist, wie in unserem Fall, kann sie oftmals nicht sicher ermittelt werden; so vermag Kühn (1908) für *Daphnia pulex* nicht zu entscheiden, ob acht oder zehn Chromosomen vorhanden sind. Angesichts ähnlicher Angaben, die ihm darzutun scheinen, dass die Chromosomenzahl in den somatischen Zellen „nicht ganz streng“ sei, kommt ein so skeptischer Kritiker der herrschenden zellulären Theorien wie R. Fick (06) gleichwohl zu dem Schlusse: „Immerhin dürfen wir einstweilen doch wohl als Regel annehmen, dass einer Organismenart eine bestimmte Chromosomenzahl zukommt und dass diese Chromosomenzahl sich in allen Körperzellen der betr. Art konstant erhält.“ Aber es fehlt auch nicht an Stimmen, die sich gegen die allgemeine Gültigkeit des Gesetzes von der Konstanz der Chromosomenzahl aussprechen. So hat in neuester Zeit (1911) de la Valle (zitiert nach R. H. Erdmann [1912]) im Peritoneum von *Salamandra* Chromosomenzahlen von 19—27 konstatiert und dabei berechnet,

dass 24 die häufigste Zahl ist, und dass sich die vorliegende Schwankungsbreite als ein Fall von fluktuierender Variation auffassen lässt. Daraus erkennt man, welch überraschende Gesichtspunkte durch eine sorgfältige und quantitativ zureichende Untersuchung hier gewonnen werden können und wie wenig andererseits die üblichen Angaben über die spezifischen Chromosomenzahlen und also auch die für unseren Fall vorliegenden geeignet sind, zum Ausgangspunkt für Schlüsse allgemeiner Art zu dienen.

Wenn uns also dem Dargelegten zufolge eine Stellungnahme für oder gegen das Gesetz der Zahlenkonstanz nicht zukommt und auch das oben aufgestellte Resultat der die Chromosomenzahl des Zoogonus betreffenden Ermittlungen, das die verschiedenen Möglichkeiten noch offen lässt, für unseren Fall eine ausreichende Sicherheit besitzt, so können wir zum Schlusse dieser Betrachtung doch darauf hinweisen, dass der Zwölfzahl gegenüber den Zahlen 10 und 14 eine ungleich höhere Wahrscheinlichkeit zukommt. Und auch bei einer solchen Präzisierung unseres Standpunktes befinden wir uns im Einklang mit Grégoire. Zu dieser Stellungnahme berechtigt uns nicht nur der bereits hervorgehobene Umstand, dass die Zahl 12 allein jeweils einwandfrei zu ermitteln war, wenn wir von der einen Äquatorialplatte mit 14 Chromosomen zunächst absehen, sondern vor allem auch die Heranziehung gewisser die reduzierte Anzahl von Kernschleifen enthaltender Oozytenkerne. Sämtliche pachytänen Kerne nämlich, die wir später vorführen werden (Fig. 38—44) und die wir als die einzigen Stadien mit absolut sicher bestimmbar Chromosomenzahlen bezeichnen müssen, enthalten sechs Chromatinteile; ein solcher Kern, der sieben Schleifen enthalten hätte, ist uns nie begegnet und wir haben nur einen einzigen Knäuel mit sieben segmentierten Teilstücken zu verzeichnen. Demgegenüber fällt es wenig ins Gewicht, wenn wir schliesslich bei dem Versuch, die Chromosomen der ersten Reifungsteilung zu zählen, in dem Bestreben, den Voruntersuchern gerecht zu werden und nicht zu wenig Elemente anzunehmen, als mögliche Maximalzahl 7 angegeben werden; denn in diesen Fällen werden wir sehen, dass die Ungunst des Objekts ganz sichere Zählungen unmöglich macht. Es kommt aber noch ein weiterer Punkt hinzu, der zugunsten der Annahme, die Zahl 12 sei die spezifische, verwertet werden kann. Die Mitose der Fig. 6 nämlich, in der wir 13 Chromatinteile fest-

stellen müssen, entstammt als Furchungsteilung dem Uterus desselben Tieres, dessen somatische Teilung, Fig. 1, nur 12 Chromosomen aufweist und, ein Fall, der noch wichtiger ist, die Äquatorialplatte der Fig. 10, die einzige, in der anscheinend einwandfrei 14 Chromosomen zu zählen sind, wurde im Uterus eines Tieres gefunden, in dessen Ovarium die beiden in den Fig. 38 und 39 abgebildeten Bukettstadien mit je sechs Chromatinschleifen liegen. Diesen Unstimmigkeiten gegenüber bleibt nur die Frage, ob man annehmen darf, dass etwa nicht einmal die Zellen ein und desselben Organismus von gleicher Chromosomenzahl seien, oder ob man nicht vielmehr den gelegentlichen Befund von 14 Chromosomen, der dem Augenschein nach zunächst nicht zu bezweifeln ist, einer Zerschnürung einzelner Chromosomen in scheinbar selbständige Elemente zur Last legen soll. Eine Entscheidung dieser Frage ist freilich nicht zu treffen. Aber auch der letztgenannte Punkt scheint im Zusammenhalt mit den übrigen die Wahrscheinlichkeit zu erhöhen, dass in der Regel für *Zoogonus mirus* 12 Chromosomen typisch sind, und dass 14 Chromosomen resp. 7 reduzierte Elemente nur ausnahmsweise einmal als atypisches Vorkommnis angetroffen werden.

D. Oogonien.

Der Aussentfläche des etwa birnförmigen Ovariums zunächst gelegen findet man einzelne Oogonien (Fig. 11 und 12). Ihre Zahl ist jeweils lange nicht so gross, dass sie eine geschlossene Aussenzzone des Ovariums zu bilden vermöchten, sondern sie befinden sich in der genannten Lage einzeln oder nur mit einigen wenigen anderen zusammen; daher trifft man höchstens vereinzelter Nester in der Peripherie des Ovariums, zwischen denen auch Oozyten in jungen Entwicklungsstadien an die Aussentfläche der Keimdrüse gelangen. Die Oogonienkerne sind durch eine feinkörnige Verteilung des Chromatins charakterisiert. Sie sind von rundem oder ovalem Durchschnitt und besitzen einen kleinen Nukleolus.

Das zum Oogonienkern gehörige Plasmateritorium lässt sich nicht abgrenzen, doch können wir aus der Tatsache, dass die Kerne den nachbarlichen Oogonien- oder Oozytenkernen sehr oft fast bis zur Berührung angenähert und andererseits beinahe bis zum Oberflächenniveau des Ovariums herangerückt sind, schliessen,

dass nur ein äusserst dünner Protoplasmamantel zu einem solchen Kern gehören kann. Die Grösse der Oogonienkerne schwankt innerhalb enger Grenzen.

Was die Teilungen der Oogonien betrifft, so findet man in der Mehrzahl der Ovarien überhaupt keine und nur selten einmal eine vereinzelte. Dieser Befund macht die Angabe Goldschmidts (1905), dass niemals Teilungsfiguren im Ovarium zur Beobachtung kämen, verständlich. Man gewinnt hiernach den Eindruck, als ob im geschlechtsreifen Zoogonus nur noch eine sehr spärliche Vermehrung der Eier stattfände. Zieht man dazu in Betracht, dass das Ovarium dieses Trematoden überhaupt keine grosse Anzahl von Eiern enthält — es können rund 50 Kerne in demselben gezählt werden — so muss uns eine etwaige spärliche Eiproliferation von einem allgemein biologischen Gesichtspunkte aus noch merkwürdiger erscheinen. Es ist bekannt (siehe Korschelt und Heider, 1902, S. 251), dass die parasitischen Cestoden und Trematoden bei ihrem komplizierten Entwicklungsgang, in dessen Verlauf die meisten Eier und Larven zugrunde gehen, eine „enorme Menge von Eiern“ hervorbringen. Zoogonus würde nach unseren Befunden dieser Erfahrung nicht entsprechen. Dass aber die Proliferation der Eier periodisch vor sich gehe, was Schellenberg (1911) für *Fasciola hepatica* in Betracht zieht, können wir in unserem Fall kaum für wahrscheinlich halten, da doch das untersuchte wie auch schon Goldschmidts Material in verschiedenen Jahreszeiten gesammelt wurde und — dies gilt besonders für unsere Objekte — von verschiedenen Fundorten stammt.

Die beobachteten Oogonienteilungen sind in den Fig. 13—17 abgebildet. Es handelt sich hierbei um eine frühe und eine späte Prophase (Fig. 13, 14), um zwei Metaphasenstadien (Fig. 15, 16) und um eine Telophase (Fig. 17). Wenn die Chromosomen dieser Mitosen gezählt werden können, wie in den beiden Metaphasenbildern und der frühen Prophase, so ergibt sich, dass sie in der Zwölfzahl, die wir als Normalzahl des Zoogonus erkannt haben, vorliegen.

E. Die Oozyten-Entwicklung.

Nach der Mitteilung des Wenigen, was wir über die Oogonien in Erfahrung gebracht haben, werden wir die Ei-Entwicklung im engeren Sinn, die Oozyten-Genese, in drei aufeinanderfolgenden

Perioden, welche durch ganz natürliche Grenzen voneinander geschieden sind, schildern. Die I. Periode umfasst den Entwicklungsgang der Oozyten bis zum Bukettstadium oder, im Hinblick auf die Bedeutung dieses Abschnittes gesprochen, die Chromatinquellungen des Oozytenkerns, welche zur Entstehung der reduzierten Anzahl von Chromosomen führen. Die folgende Etappe der Oogenese lässt sich als die Hauptwachstumsperiode der Eier bezeichnen; morphologisch betrachtet ist diese II. Periode durch den wiedereingetretenen Ruhezustand des Oozytenkerns gekennzeichnet. Und schliesslich folgt dann als III. die Periode der beiden Reifungsteilungen.

I. Periode der Oozyten-Entwicklung bis zum Bukettstadium.

a) Die Befunde.

Ausser den Oogonienkernen wird zumeist ebenfalls in der Peripherie des Ovariums noch eine zweite Art von Kernen gefunden, die sich von ersteren insbesondere durch ihre Struktur unterscheiden (Fig. 18). Auch sind diese Kerne in der Regel oval und ihr Nukleolus liegt einem Pol nahe. Was ihre Struktur anlangt, so sind sie, im Gegensatz zu den Oogonienkernen mit ihren dem Kerngerüst eingelagerten Chromatinkörnern, gleichmässig von einem feinmaschigen Netz schwachgefärbter Fäden erfüllt; nur die Knotenpunkte des Netzes treten als feine dunklere Punkte etwas stärker hervor. Es kann als Charakteristikum dieser Kerne angeführt werden, dass in vielen Fällen, wohl unter dem Einfluss der Fixierung, ihr Inhalt von einem Kernpol, zumeist demjenigen, welchem der Nukleolus benachbart liegt, ein wenig zurückgezogen ist. Es handelt sich also um Kerne, die von wesentlich zarterem, unseren Reagenzien gegenüber ungleich empfindlicherem Bau sind als die Oogonienkerne. In diesen so charakteristischen Kernen haben wir, wie ihre weiteren Veränderungen zeigen, Oozytenkerne¹⁾ zu sehen.

Diese Ausgangsstadien der Oozyten-Entwicklung erfahren nun Veränderungen, die allerdings bei der Kleinheit der Objekte

¹⁾ Es wird später (S. 48) erörtert werden, aus welchen Gründen wir diese Oozytenkerne nicht für die aus der letzten Oogonienteilung hervorgegangenen Oozytenruhekerne halten können.

und bei ihrer offenkundigen Labilität gegenüber den Wirkungen der Fixierung nicht leicht zu erkennen sind. Es kommen Kerne zur Beobachtung, die sich zunächst gar nicht von den vorher beschriebenen zu unterscheiden scheinen, in deren Inneren man aber bei genauer Betrachtung des Kernnetzes ein paar kompaktere Züge wahrnimmt (Fig. 19). Dann begegnen wir Stadien mit bereits bedeutend weiter fortgeschrittener Herausarbeitung solcher Strukturen (Fig. 20). Wir sehen auf dem Bild eines derartigen Kernes, das die komplizierte Wirklichkeit natürlich nicht absolut getreu, sondern nur ihrem wesentlichen Eindruck nach wiedergibt, schon eine ganze Anzahl von teils scholligen, teils strangförmigen und oft abgebogenen Bildungen. Diese sind von sehr lockerem Bau und haben keine scharfen Konturen. Wenngleich sie nur schwach gefärbt sind, so besitzen sie doch eine unverkennbare Affinität zu den Kernfarbstoffen, so dass wir sie als Chromatin-Ansammlungen bezeichnen dürfen.

Kernbilder, die von dem Ausgangsstadium nun schon stark abweichen, sind dann in den Fig. 21 und 22 als die Repräsentanten eines weiteren Entwicklungsstadiums der Oozyte wiedergegeben. Der gesamte Inhalt dieser ovalen, einen polständigen Nukleolus enthaltenden Kerne hat sich infolge von Schrumpfung etwas von der Membran zurückgezogen. Dies ist um so bemerkenswerter, als die vorliegenden Objekte aus Ovarien stammen, deren übrige Kerne auf das beste konserviert sind. Es scheint also, dass auch diesen Kernen noch eine besonders empfindliche Struktur eigen ist und wir werden später bei der Besprechung der Synapsisfrage Beispiele dafür geben, dass die Schrumpfung bei diesen Kernen unter Umständen sehr weit gehen kann. Bei der Betrachtung dieser Kerne gewinnen wir den Eindruck, dass das ursprüngliche feinfädige Gerüst nunmehr fast ganz von den entstandenen chromatischen Elementen aufgebraucht worden ist. Nurmehr Reste desselben sind zwischen den neuen Inhaltsgebieten des Kernes wahrzunehmen. Die neben den chromatischen Zügen noch erhaltenen Gerüstreste sind aber nicht von der Beschaffenheit des ursprünglichen Kernnetzes, sind nicht Teile eines Maschenwerks, sondern bestehen aus einzelnen oder auch zu zweien parallel verlaufenden feinen Fäden. Letztere Anordnung ist, da die betr. Fäden hier oberflächlich liegen, besonders gut in Fig. 21 zu sehen. So können wir aus dem Vergleich dieses älteren Kernes mit dem

Ausgangsstadium eine Vorstellung gewinnen über die Art, wie die nunmehr vorhandenen Chromatinelemente entstanden sein werden. Es ist anzunehmen, dass sich der Prozess mit einer Reduktion des Kerngerüstes einleitet; aus dem feinmaschigen Netzwerk bilden sich vielleicht durch Zusammenfließen der auf den anastomosierenden Fäden feinstverteilten chromatischen (?) Substanz auf wenige Hauptstrassen einzelne Fäden, von denen je zwei sich aneinanderlagern. Und wenn wir weiter schliessen, dass möglicherweise aus einem Doppelfädchen ein dickeres Chromatinelement sich entwickelt, so gründen wir diese Annahme auf den gleichfalls in Fig. 21 so deutlich in Erscheinung tretenden Umstand, dass die Chromatinbänder hie und da an einem oder beiden Enden sich in zwei dünne, vielleicht spiralig umeinander gewundene Fädchen fortsetzen. Keinem, der mit der Literatur über die Entwicklung der generativen Zellen vertraut ist, wird die Ähnlichkeit dieser Bilder mit jenen entgehen, die z. B. bei *Tomopteris*-Spermatozyten beobachtet und für die Theorie von der Parallelkonjugation in Anspruch genommen worden sind. Wir werden später Gelegenheit nehmen, auf diese allgemeinen Gesichtspunkte näher einzugehen.¹⁾ Was die Chromatinfäden anlangt, welche die vorliegenden Kerne in den verschiedensten Richtungen durchziehen, so sind sie anscheinend ganz locker zusammengefügt und an ihrer Oberfläche aufgerauht. Sie besitzen, wenn sie auch zum Teil noch durch das Substrat, auf dem sie entstanden sind, nämlich durch das Kernnetz oder dessen Reste zusammenhängen, doch eine so deutliche Selbstständigkeit, dass man längere oder kürzere Einzelelemente voneinander unterscheiden kann. An eine Zählung derselben ist aber natürlich nicht zu denken. Ferner sei noch eigens hervorgehoben, weil wir von dieser Tatsache bei der Begründung unserer Seriierung der Oozyten-Entwicklungsstadien Gebrauch machen werden, dass die Chromatinfäden und -schleifen keine bestimmte Richtung ihres Verlaufes erkennen lassen und dass insbesondere von einer Orientierung derselben gegen einen Pol des ovalen Kerns keine Rede sein kann.

Der Prozess der Herausbildung von selbstständigen Chromatinelementen, den wir in den bisher gezeigten Oozytenkernen sich einleiten und ablaufen sahen, hat in dem Stadium

¹⁾ Siehe S. 60 und S. 74.

der Fig. 23, Textfig. 3¹⁾ seinen Abschluss erreicht; hier sind alle Chromosomen ausgebildet und keine feinen Gerüstfäden mehr zwischen ihnen zu sehen. An einzelnen von ihnen, so an den Chromosomen 9 oder 3, fällt eine, allerdings nur eben wahrnehmbare Duplizität des Baues auf. Man hat den Eindruck, als ob zwei parallel liegende Reihen feinsten Chromatinkörnchen, die



Fig. 3.

eine ganz schmale Lichtung zwischen sich lassen, das Chromosom zusammensetzten. Die einzelnen Elemente sind von verschiedener Länge, das mit 1 bezeichnete fällt durch seine besondere Kürze auf. Von wesentlicher Bedeutung aber ist die Tatsache, dass es gelingt, die Fäden und Schleifen zu zählen. Es sind wahrscheinlich deren zwölf vorhanden; wenn aber auch über die Selbstständigkeit eines oder

des anderen Elementes gestritten werden könnte, soviel ist hier wie bei den nachher zu besprechenden Kernen des gleichen Stadiums ganz sicher, dass die Normalzahl der Chromosomen und nicht die haploide Anzahl vorliegt; und so können wir sagen, dass in den Oozyten vielleicht durch Aneinanderlagerung je zweier feiner Chromatinfäden zwölf Chromosomen entstehen. Es ist möglich, wie auch noch andere Beispiele zeigen werden, dass zunächst an den Chromosomen ihre ursprüngliche Duplizität in Erscheinungen, wie die oben erwähnten, sich noch bemerkbar macht, aber solche Strukturen scheinen sich nicht lange zu erhalten, denn die Mehrzahl der Schleifen ist von einheitlichem, lockeren Gefüge. In dem vorliegenden Kern könnte man die Chromosomenanordnung zunächst als eine bestimmte

¹⁾ Zu den nunmehr vorzuführenden Figuren sei bemerkt, dass sie bis auf eine (Fig. 54) Totalbilder der untersuchten, immer vollständig im Mikrotom-schnitt gelegenen Kerne sind. Bekanntlich ist die Orientierung in einer derartigen plastischen Wiedergabe des ganzen Kerninhaltes, von dem der Untersucher selbst oft erst nach tagelanger Durcharbeitung eine räumliche Vorstellung gewinnt, mit Schwierigkeiten verbunden. Wir hoffen diesen zu begegnen, wenn wir zu jeder Tafelfigur als der möglichst naturgetreuen Abbildung eine auf Grund einer Pause angefertigte schematische Abbildung im Text geben, auf der infolge Überlagerung verdeckte, aber für die Auffassung wichtige Stellen sichtbar gemacht und die Chromosomen und Knäuel-segmente zwecks leichter Verständigung mit Nummern bezeichnet sind.

betrachten, weil tatsächlich die Mehrzahl der Fäden in der Längsrichtung des Kernes verlaufen. Eigentlich fallen nur die Chromosomen 5 und 8 aus diesem Plane heraus. Wenn wir aber dann noch eine Reihe von Oozyten derselben Entwicklungsstufe vorgeführt und dabei gezeigt haben werden, dass bei ihnen eine bestimmte Orientierung der Chromosomen nicht festzustellen ist, so werden wir den Verhältnissen des vorliegenden Beispiels keine grosse Bedeutung zuerkennen wollen. Sei es, dass die Orientierung der Schleifen in der Längsrichtung des Kernes hier nur zufällig, vielleicht in Anpassung an die Raumverhältnisse zustande kam, sei es, dass sie ein Produkt der Fixierung wäre, welche Möglichkeit der Vergleich mit einem anderen später zu erörternden Fall (Fig. 54, siehe S. 42) bedenken lässt, sei es endlich, dass diese Oozytenkerne wirklich für eine ganz kurze Zeit bestimmt gerichtete Chromosomen besitzen, jedenfalls hat diese Erscheinung nichts mit der viel charakteristischeren anderen zu tun, die wir in dem Bukettstadium als polare Orientierung der Chromatinschleifen bezeichnen werden.¹⁾

In dem Oozytenkern der Fig. 24 sehen wir gleichfalls eine grössere Anzahl selbständiger Chromatinteile. Die mit 1 und 6 (Textfig. 4) bezeichneten scheinen längsgespalten, letzteres allerdings nur an seinem oberen Ende. Eine Zählung der Kerngebilde ergibt wiederum die Zahl 12.



Fig. 4.



Fig. 5.

Auch der in Fig. 25, Textfig. 5, abgebildete Kern enthält die Chromatinelemente in der Normalzahl. Freilich macht hier die Zählung recht grosse Schwierigkeiten. So ist z. B. nicht ganz sicher zu entscheiden, ob die mit 11 und 12 bezeichneten Elemente wirklich mit ihren freien Enden zusammenstossen oder ob es sich

¹⁾ Siehe die Anmerkung auf S. 42.

hier um ein abgeknicktes Chromosom handelt. Die Schwierigkeiten, welche der genauen Zählung der Chromosomen in solchen Stadien entgegentreten, sind ja bekannt und oft hervorgehoben worden. Denn wir müssen vom rein morphologischen Standpunkt aus diese Kerne jenen Stadien der Mitose vergleichen, die man Prophasenstadien oder segmentierte Knäuel nennt. Wenn wir diese Bezeichnung hier nicht anwenden, so geschieht es natürlich, was den Ausdruck „Prophasenkerne“ anlangt, um nichts über die Bedeutung dieser Kerne zu präjudizieren. Aber wir werden später (S. 92) an die erwähnte Ähnlichkeit dieser und auch der noch zu zeigenden Oozytenkernbilder mit den Prophasenstadien der somatischen Mitosen allgemeine Erörterungen anknüpfen. Von segmentierten Knäueln aber wollen wir deswegen nicht reden, weil wir diese Bezeichnung auf spätere Entwicklungsformen der Oozytenkerne werden anwenden müssen. Trotz der erwähnten Schwierigkeit im einzelnen lässt sich aber doch sowohl von diesem Kern wie von allen anderen in dieselbe Kategorie gehörigen mit voller Sicherheit angeben, dass sie die Normalzahl der Kernelemente und nicht etwa bloss die haploide Anzahl derselben enthalten.

Zwölf Chromosomen zählen wir auch in dem Oozytenkern, welchen die Fig. 26, Textfig. 6 darstellt. Gegenüber den beiden



Fig. 6.

zuerst gezeigten Stadien dieser Art ist hier zu bemerken, dass ebensowenig wie bei dem vorherigen (Fig. 25) Kern von einer bestimmten Orientierung der Elemente gesprochen werden kann. Wir bemerken hier, dass einzelne Chromatinelemente mit ihren Enden zusammenstossen. Wir werden aber erst, wenn wir derselben Erscheinung in den weiteren Kernen, wo sie uns noch deutlicher entgegentritt, begegnet sein werden, erkennen, dass diese zunächst nicht beachtenswert erscheinende Aneinanderlagerung der Chromosomen den Anfang eines Prozesses der Chromosomenverknüpfung darstellt.

Ein fernerer Beispiel für den Oozytenkern mit der Normalzahl der Chromosomen ist in Fig. 27, Textfig. 7, abgebildet. Auch hier kann man ein Zusammenstossen einzelner Chromosomen mit ihren Enden bemerken. Aber auch in diesem Fall ist diese Beziehung zwischen nahe beieinander liegenden Chromosomen nicht

hervorstechender als in den Prophasenstadien der somatischen Mitosen, wo man denselben Befund bekanntlich sehr oft erheben kann, und man wäre sicher nicht geneigt, ihm angesichts solcher Bilder, wie die Fig. 27 eines darstellt, eine besondere Bedeutung zuzuerkennen.

In dieser Beziehung werden wir aber anderer Ansicht, wenn wir die nun zu beschreibenden Kerne betrachtet haben.



Fig. 7.



Fig. 8.

Da ist zunächst in Fig. 28, Textfig. 8 zu erkennen, dass dieser Kern mit den vorigen wohl jenes gemeinsame Merkmal besitzt, das im Vorhandensein der Normalzahl der Chromatin-elemente besteht. Aber diese sind nicht mehr wie in dem Kern der Fig. 25 und wie in den anderen wenigstens in der überwiegenden Mehrzahl unabhängig voneinander im Kernraum verteilt, sondern sie stoßen zu mehreren mit ihren Enden aneinander, so dass oft nur ein feiner Querspalt die Grenze zwischen ihnen angibt. So sind die Chromosomen 6 und 12, 7 und 9, 10 und 4 und die Chromosomen 1, welches übrigens an seinem Ende gespalten ist, und 8, ferner 2 und 3 hintereinander zu längeren gekerbten Fäden angeordnet. Die Enden der mit 5 und 6, wie auch die Enden der mit 3 und 4 bezeichneten Elemente stehen einander so nahe, dass sie sich nur einander zuzuneigen brauchen, damit der Prozess der Chromosomenverknüpfung noch weiter schreitet. Denn um einen fortschreitenden Vorgang handelt es sich, wie wir jetzt erkennen, ohne Zweifel.



Fig. 9.

Die Fig. 29, Textfig. 9, die einen den vorigen entsprechenden Kern darstellt, zeigt dies ebenso deutlich. Hier sind, während

die Chromosomen 10 und 11 noch ausserhalb des Verbandes der übrigen sind und die Chromosomen 7 und 4 mit ihren freien Enden noch keine weitere Verknüpfung gefunden haben, aus 3—1—5—6 und aus 8—9—2 schon längere Fäden gebildet worden. Übrigens ist auch hier innerhalb der Chromosomen 8, 3 und 1 an je einer Stelle die Andeutung einer Längslichtung zu bemerken.

Nunmehr wollen wir auf die vorher gezeigten Oozytenkerne zurückgreifen und zeigen, dass die Chromosomenverkettung, die uns in den beiden letzten Beispielen in so auffallender Weise entgegentritt, bei jenen in ihren Anfängen zu beobachten ist, dass wir also die Entwicklung dieses allmählich fortschreitenden Vorgangs aus unseren Präparaten erschliessen können. So zeigt uns die Fig. 26, Textfig. 6, dass dort die Chromosomen 6 und 7, wie auch die mit 9 und 11 bezeichneten mit je einem Ende bis auf einen ganz schmalen Spalt einander angenähert sind. Ein etwas grösserer Zwischenraum besteht noch zwischen dem freien Ende von 11 und dem unteren Ende von 10, während 10 und 3 wiederum ein Paar bilden. Wir können jetzt sagen, dass sich in diesem Falle wahrscheinlich aus 9—11—10—3 eine Kette hergestellt hätte. Und in Fig. 27, Textfig. 7, treffen wir ganz entsprechende Verhältnisse. Hier sind die Schleifen 2 und 6 schon ein Paar und mit dem freien Ende steht erstere dem mit 8, letztere dem mit 11 bezeichneten Element sehr nahe. 10 und 11 konvergieren nach links oben und die Chromosomen 3 und 8 sind mit je einem Ende des hufeisenförmigen Chromosoms 7 in



Fig. 10.

Kontakt getreten. Es ist wahrscheinlich, dass hier eine Verknüpfung der Chromosomen 3—7—8—2—6—11—10 zu einem längeren Kernfaden zustande gekommen wäre.

Die zuletzt vorgeführten Kerne mit Chromosomenketten stellen aber noch nicht das Ende des Prozesses der Chromosomenverknüpfung dar. Dieser läuft vielmehr weiter, bis ein kontinuierlicher Kernfaden

gebildet ist, den man von einem Ende bis zum anderen durchverfolgen kann.

Ein solcher Knäuel ist in Fig. 30, Textfig. 10, wiedergegeben. Man wird sich mit Hilfe des Schemas leicht davon überzeugen, dass der Kernfaden tatsächlich von dem frei in den Kernraum

ragenden, links oben befindlichen Ende bis zu dem anderen unter dem Nukleolus gelegenen in grossen, in verschiedenen Ebenen gelegenen und sich unter Umständen nach Art eines gelösten Knotens durchsetzenden Windungen durchläuft. Bei der Verfolgung des Fadens kommt man an drei, im Schema noch verdeutlichte quere Unterbrechungen, während er sonst ganz einheitlich ist und seine Entstehung aus zwölf hintereinander gelagerten Einzelelementen ohne die Kenntnis der vorausgehenden Stadien der fortschreitenden Chromosomenverkettung an ihm selbst nicht ersichtlich wäre.

Wenn wir uns vor Augen halten, dass dem nahezu ganz einheitlichen Kernfaden Chromatinformationen von der Art vorausgegangen sein müssen, wie wir sie bei dem Kern der Fig. 29, Textfig. 9, in den längeren und je nach der Anzahl ihrer Komponenten segmentierten Chromosomenketten kennen gelernt haben, so werden wir sagen, dass das ideale Zwischenglied zwischen jenen Vorstadien und dem völlig einheitlichen, jeder Unterbrechung entbehrenden Chromatinband, zu dessen Bildung es, wenn auch vielleicht nur für ganz kurze Zeit, offenbar kommen kann, durch einen Knäuel repräsentiert wäre, der aus zwölf durch Querkerben voneinander getrennten Gliedern bestünde. Aber im Hinblick auf die uns bekannte Entstehungsgeschichte des einheitlichen Kernfadens wird es uns nicht wundern, dass wir dieser seiner hypothetischen Vorstufe in Wirklichkeit nicht begegnen. Haben wir ja doch gesehen, dass die Chromosomenverkettung allmählich vor sich geht und dass also manche Elemente des eben gebildeten Knäuels bereits längere Zeit hindurch miteinander in Verbindung sein werden, während andere kurz vor seiner Entstehung erst zusammengetreten sind. Es könnten z. B. — und ein Kernbild wie das der Fig. 29, Textfig. 9, wird diese Annahme berechtigt erscheinen lassen — in einem Oozytenkern aus je sechs Elementen zwei, zunächst gegliederte Ketten entstehen, die längere Zeit nebeneinander liegen bleiben, bis schliesslich durch ihre endweise Vereinigung der letzte Schritt zur Bildung des durchlaufenden Fadens getan wird. Da ist es doch wahrscheinlich, dass bis zu diesem Zeitpunkt die Querkerben zwischen den Elementen der beiden Ketten verschwunden sein werden, da doch, wie es der Augenschein lehrt, die Tendenz zur völligen Verlötung der hintereinander gereihten Chromosomen vorhanden ist. Ein so entstandener kontinuierlicher Knäuel würde

dann zunächst nur eine einzige quere Unterbrechung aufweisen. So ist es also wahrscheinlich, dass der theoretisch postulierte, elfmal unterbrochene Chromatinfaden niemals wirklich zustande kommt. Wenn sich andererseits auch keine Kerne mit nur ganz wenigen einheitlichen Fäden gefunden haben, wobei allerdings zu bedenken ist, dass dieser negative Befund bei der relativ doch geringen Anzahl von beobachteten Kernen keine Entscheidung über die Existenz oder Nichtexistenz der hypothetischen Zwischenglieder zulässt¹⁾, so bleibt noch eine weitere Annahme, für deren Berechtigung gerade der Knäuel der Fig. 30, Textfig. 10, sprechen dürfte. Es könnte nämlich sein, dass erst bei oder kurz nach dem Zusammenschluss der gegliederten Ketten ein völliges Verschmelzen sowohl zwischen den neuverbundenen freien Enden wie auch zwischen den schon länger im einheitlichen Verbande stehenden Kettengliedern eintritt. Kurz vor dem Abschluss dieses Verlötnungsprozesses müsste der Knäuel aussehen wie der oben gezeigte, welcher noch drei Dehiszenzen besitzt und also streng genommen erst eine Übergangsform zu dem Endresultat des Chromosomenverkettungsprozesses, nämlich zum kontinuierlichen völlig einheitlichen Kernfaden, darstellt.

Einem solchen entspricht aber der in Fig. 31, Textfig. 11, abgebildete Knäuel.



Fig. 11.

Hier könnte höchstens eine einzige nahe dem linken nach oben sehenden Ende gelegene Lichtung als Querkerbe angesprochen werden. Aber wir dürfen wohl in Anbetracht dessen, dass die Unterbrechung des Fadens an dieser Stelle nur eben wahrnehmbar und sein weiterer Verlauf ganz ununterbrochen ist, hier von einem wirklich kontinuierlichen Knäuel sprechen. In diesem Betracht kann die einseitige Zusammendrängung dieses Knäuels, der wir bei der Besprechung der Synapsisfrage später gedenken werden, ausser Acht bleiben.

Was den feineren Bau dieses und des vorigen Kernfadens anbelangt, so ist er von eben dem lockeren aus Chromatinkörnern und Schollen bestehenden Gefüge und von derselben rauhen Ober-

¹⁾ Dass solche Übergangsformen vielleicht unter den später zu zeigenden Segmentierungsstadien des Knäuels verborgen sein könnten, erscheint wegen der gesetzmässigen Zahlenverhältnisse derselben ausgeschlossen.

fläche wie die Chromosomen, die ihn gebildet haben. Damit ist schon gesagt, dass an keiner Stelle dieser Kernfäden die Andeutung eines Längsspaltcs vorhanden ist.

Wohl aber gewinnt man an mehreren Stellen des kontinuierlichen Knäuels der Fig. 32, Textfig. 12, den Eindruck einer zweireihigen Anordnung feiner Chromatinkörnchen. Wie sich bei der Betrachtung späterer Stadien, an denen wir die gleiche Wahrnehmung auch hier und da einmal machen, zeigen wird, handelt es sich bei der erwähnten Erscheinung keineswegs um die Anbahnung eines Längsspaltcs, sondern es kann gesagt werden, dass ein wirklicher Längsspalt nur an den in der Normalzahl vorhandenen Chromosomen der jüngsten Oozyten, später aber nicht mehr beobachtet wird.¹⁾



Fig. 12.

Der erwähnte kontinuierliche Knäuel der Fig. 32, Textfig. 12, ist von den vorher gezeigten darin verschieden, dass er eine grössere Anzahl querer Unterbrechungen besitzt. Bei einem Vergleich der Originalfigur mit dem Schema des Knäuels sind diese Stellen leicht zu finden. Nun wird man ja in Erinnerung an die vorausgegangenen, die Querkerben im kontinuierlichen Faden betreffenden Ausführungen zunächst glauben wollen, es handle sich auch hier um noch übrig gebliebene Dehissenzen zwischen den zwölf Komponenten des Knäuels. Ganz ausschliessen lässt sich diese Möglichkeit natürlich nicht. Aber ein ausschlaggebendes Moment spricht dafür, dass die Unterbrechungen im Verlaufe dieses Knäuels anderer Art sind als die früher besprochenen primären Querkerben, dass hier sekundäre Kerben im vorher einheitlichen Faden neu entstanden sind. Die Entstehung dieser sekundären Unterbrechungen des Knäuels leitet seine Segmentierung ein.

Wenn wir begründen wollen, warum wir hier geneigt sind, sekundäre Kerben anzunehmen, so müssen wir der Schilderung der Oogenese vorausgreifen und auf das Stadium des Oozytenkernes verweisen, das wir als das Bukettstadium am Ende der

¹⁾ Dass wir die erwähnte Erscheinung zweier Körnchenreihen im Chromatinfaden natürlich nicht für etwas Zufälliges halten, werden spätere Darlegungen (S. 92) zeigen.

ersten Periode der Oogenese antreffen werden. Dort finden wir ausnahmslos und in selten klarer Weise feststellbar die haploide Anzahl der Chromosomen. Man kann also sagen, dass die Chromatiumlagerungen im Oozytenkern während der ersten Periode seiner Entwicklung die Herabsetzung der Zahl der Kernelemente auf die Hälfte der Normalzahl, also auf sechs, mit sich bringen. Nun fragt es sich angesichts der Zerschnürung des kontinuierlichen Knäuels, bis zu welchem Moment ja noch keine Reduktion stattgefunden hat, ob etwa der kontinuierliche Knäuel wiederum in die Anzahl seiner Komponenten zerfällt, oder ob jetzt sich die numerische Reduktion vollzieht. Letzteres ist der Fall. Der kontinuierliche Knäuel zerfällt in die haploide Zahl von Kernschleifen, und der Prozess seiner Segmentierung ist somit als diejenige Phase der Oogenese zu betrachten, während welcher die numerische Reduktion der Chromosomen eintritt. Den Beweis für diese Feststellung wird die Demonstration der Oozytenkernstadien liefern, die in lückenloser Reihenfolge vom Knäuel bis zum Bukettstadium führen werden.

Wenn dem aber so ist, dass der kontinuierliche Knäuel in sechs Chromatinelemente zerfällt, so muss ein Knäuel, der so gekerbt ist, dass gerade sechs Teile gegeneinander abgegrenzt werden können, als sekundär unterbrochen zu betrachten sein. Diese Voraussetzung erfüllt nun der zuletzt gezeigte Kernfaden der Fig. 32, Textfig. 12, der aus sechs Segmenten besteht. Nach dem Gesagten wird wohl kaum jemand geneigt sein, die hier vorgefundenen Querkerben des Fadens für zufällig noch stehengebliebene primäre Einschnitte zu halten. Überdies wird ein



Fig. 13.

weiteres Argument für unsere Auffassung später beigebracht werden, wenn wir die Längenmaße der Knäuelsegmente und der Bukettschleifen miteinander vergleichen werden.

Eine weitere Phase der Segmentierung des Kernfadens in die reduzierte Anzahl von Chromatinelementen wird durch den Kern der Fig. 33, Textfigur 13, dargestellt. An dieser hier vor-

liegenden Chromatinformation können wir zunächst zeigen, dass von den beiden im Schema mit \times bezeichneten Fadenenden ein

mehrfach unterbrochener Knäuel durchläuft und somit diese Kernfigur an den kontinuierlichen bzw. sekundär unterbrochenen Knäuel anzureihen ist. Untersuchen wir, in wie viele Segmente dieser Chromatinfaden abgeteilt ist, so ergibt sich, dass fünf Fadenteile hintereinander liegen. Diese fünf Abschnitte haben sich nun im Vergleich mit jenen des Knäuels der Fig. 32, Textfig. 12, bereits weiter voneinander entfernt, zwischen den Enden der einzelnen Schleifen, die sich allerdings noch so nahe stehen, dass ihr vorheriger Zusammenhang im kontinuierlichen Knäuel nicht in Frage gestellt werden kann, sind schon etwas breitere Spalten entstanden, ja, an einer links unten im Kern befindlichen Stelle, auf die im Schema ein Pfeil hindeutet, ist das untere der beiden voneinander abgerückten Fadenenden hakenförmig umgebogen und so von dem zugehörigen oberen Ende nunmehr abgewandt. Während die eben demonstrierten fünf Segmente bei gegenseitiger schärferer Abgrenzung immer noch in der Knäuelformation gruppiert sind, hat das bisher nicht betrachtete sechste Segment den Zusammenhang mit den anderen bereits völlig aufgegeben. Es liegt als eine nach links offene Schleife mit zwei ganz freien Enden selbstständig im Kern. Das obere der beiden freien Enden ist vielleicht bei der Emanzipation dieses Elements vom Knäuel nach rechts und oben umgeschlagen worden. Denkt man es sich zurückgebogen, dann trifft es nämlich auf das obere Ende des segmentierten Knäuels auf, und es ist daher nicht unwahrscheinlich, dass es sich an eben dieser Stelle abgeschnürt hat, während das andere Ende zugleich als das des ursprünglichen kontinuierlichen Knäuels zu betrachten ist.

Auf derselben Stufe der Segmentierung wie der vorige befindet sich der Knäuel der Fig. 34, Textfig. 14. Hier ist das links unten nahe der Kernmembran gelegene Chromosom bereits selbständig geworden. Wahrscheinlich stand es mit dem in der Tiefe des Kernraums befindlichen Fadenende im Zusammenhang, zu dem es nach rechts unter dem Nukleolus hinzieht. Geht man von diesem Fadenende aus der Chromatinfigur nach, so kann man auch hier wieder einen segmentierten und mehrfach abgeknickten Knäuel bis zu dem anderen nach unten umgebogen Ende (\times im Schema) finden; das andere Ende des ehemaligen einheit-



Fig. 14.

lichen Kernfadens bildete offenbar das Chromosom I mit seinem links oben gelegenen Haken. Innerhalb der Knäuelformation lassen sich auch in dem vorliegenden Falle sechs Segmente unterscheiden. Auffallend ist hier, dass der mit III bezeichnete Teil gerade an der Stelle seiner Biegung in zwei divergente Schenkel die Andeutung einer Querkerbe aufweist und dass das V-förmige fünfte Segment innerhalb seines linken Schenkels eine scharfe, annähernd rechtwinklige Knickung besitzt. Man wird wohl in Anbetracht des geringen Hervortretens solcher Stellen gegenüber den sehr deutlichen Dehiszenzen nicht verlangen, dass man sie diesen gleichsetze und etwa diesen Knäuel statt in sechs in sieben oder acht Segmente zerlege. Bei der auch hier deutlich genug hervortretenden Segmentierung in sechs Schleifen, bei der Gleichartigkeit dieser Figur und der vorigen und in Ansehung endlich der klaren Bilder, die wir noch beschreiben werden, hiesse es schon der Auffindung regelmässiger Strukturen aus dem Wege gehen wollen, wenn man nicht auch hier nur die Hauptcäsuren des Knäuels in den Vordergrund der Betrachtung stellte. Immerhin erscheinen die erwähnte Lichtung im Chromosom III und die scharfe Knickung in V beachtenswert, denn solche Beobachtungen weisen darauf hin, dass der Vorgang der Knäuelzerschnürung natürlich nicht mit absoluter Präzision abläuft. Es kann, wie wir später noch mehrmals sehen werden, vorkommen, dass eine oder die andere der reduzierten Kernschleifen eine Unterbrechung ihres Verlaufes aufweist, in derselben, gerade nur angedeuteten Weise wie das Chromosom III des in Rede stehenden Kernes. Wir werden nicht fehl gehen, wenn wir ein derartiges akzidentelles Vorkommnis auf Rechnung von Störungen im Segmentierungsprozess des Knäuels setzen.¹⁾

¹⁾ Es erheben sich natürlich im Anschluss an die durch die erwähnten Beobachtungen nahe gelegte Möglichkeit von Störungen im Ablauf der Knäuelzerschnürung einige Fragen. Man kann daran denken, dass vielleicht manchmal die Entstehung der reduzierten Schleifen auf einem abgekürzten Wege vor sich geht, dass noch bevor der kontinuierliche Knäuel ganz geschlossen ist, also noch während des Bestehens primärer Kerben, bereits ein Zerfall in einzelne Teile von reduzierter Anzahl eintrete. Es ist ferner nicht ausgeschlossen, dass die Kerben innerhalb der reduzierten Elemente als ein Zeichen für das unter gewissen unbekannten Bedingungen mögliche Wiedervortreten der die bivalenten Elemente zusammensetzenden Einzelchromosomen wäre. Wir werden später (S. 62) dieser Möglichkeiten noch einmal Erwähnung tun.

Keinesfalls treten solche Beobachtungen jemals so sehr in den Vordergrund, dass wir durch sie in Zweifel über die Richtigkeit unserer Feststellung der Segmentierung des kontinuierlichen Knäuels in einheitliche Elemente von reduzierter Anzahl geraten könnten. Wir heben aber das gelegentliche Auftreten von eben wahrnehmbaren Querkerven innerhalb der als einheitlich zu betrachtenden Chromatinteile deswegen hervor, damit man sieht, dass die Stadien, welche den Segmentierungsvorgang illustrieren sollen, auch einer skeptischen Betrachtungsweise gegenüber standgehalten haben.

Unsere bisherige Darstellung hat ergeben, dass der erste Schritt zur Segmentierung des kontinuierlichen Fadens in dem Auftreten sekundärer Kerben beobachtet werden konnte, dass in einer weiteren Phase die durch die Kerben voneinander getrennten Fadenteile weiter auseinander liegen, sodass zwischen ihren Enden grössere Dehiszenzen entstehen, bis endlich ein Segment und zwar wahrscheinlich das an einem Knäuelende gelegene sich von den übrigen vollständig löst.

Einen Fall, der sich an diesen zuletzt beobachteten Segmentierungsschritt anschliesst, repräsentiert der in Fig. 35, Textfig. 15, wiedergegebene Kern. Hier sind drei Chromosomen aus dem Knäuelverband bereits ausgetreten. Die anderen drei aber hängen noch zusammen. Von ihnen trägt das mit IV bezeichnete an dem Scheitel seiner Umbiegung eine Querlichtung von der besprochenen Art, die wiederum im Vergleich zu den zwischen den Abschnitten gelegenen Dehiszenzen die Einheitlichkeit des betr. Segmentes nicht in Frage stellt. Es ist im Hinblick auf spätere Stadien beachtenswert, dass, wie der vorliegende Fall zeigt, die Schleifen, welche den Knäuel eben verlassen haben, zunächst keine bestimmte Orientierung im Kernraum besitzen müssen.



Fig. 15.

In deutlicher Knäuelformation, wenn wir so sagen dürfen, liegen auch die Segmente noch, welche der Kern der Fig. 36, Textfig. 16, enthält. Die Tatsache, dass hier nicht wie in den bisher gezeigten Fällen sechs, sondern sieben Chromatinteile aus dem Knäuel hervorgegangen sind, wollten wir registrieren, ohne

uns dabei aufzuhalten. Unsere Erörterungen über die Normalzahl der Chromosomen bei Zoogonus überheben uns der Notwendigkeit, hier auseinanderzusetzen, warum wir dem gelegentlichen Vor-



Fig. 16.

kommen der Zahl sieben als der reduzierten keine besondere Bedeutung beizumessen haben. Für unsere Betrachtung ist vielmehr von Wichtigkeit, dass der tatsächliche Befund an dem vorliegenden Kern ohne Zwang für die Herkunft der Kernschleifen aus einem kontinuierlichen Knäuel spricht. Die Elemente VII, VI und V liegen noch hintereinander geordnet und man

braucht nur das obere Ende von IV mit dem freien Ende von V, die beiden nach abwärts sehenden Enden von IV und III und schliesslich das in der Figur rechts gelegene Ende von I mit dem ihm zunächst befindlichen von II zu vereinigen, um zu der höchst wahrscheinlichen Beschaffenheit des kontinuierlichen Knäuels vor seiner Segmentierung zu gelangen. Die Rekonstruktion ist in der nebenstehenden Textfig. 17 versucht worden.

Zu den Kernen mit eben vollendeter Segmentierung des Knäuels gehört auch der in der Fig. 37, Textfig. 18, abgebildete,



Fig. 17.



Fig. 18.

dessen im Schema mit V und II bezeichnete Schleifen das wiederholt erwähnte gelegentliche Hervortreten einer Längsrichtung erkennen lassen. In einer gewissen Beziehung aber unterscheidet sich dieser Kern von dem zuletzt betrachteten. Seine Chromatinelemente haben sich nicht nur sämtlich voneinander getrennt, sondern sie sind auch in ihrem Gesamtverlauf selbständiger geworden, insofern als die für den Knäuel charakteristischen Durch-

schlingungen bei ihnen nicht mehr in nennenswerter Weise vorhanden sind und wir hier nicht mehr wie in dem vorhergehenden Fall von einer noch erkennbaren Knäuelformation zu reden berechtigt wären. Wir beobachten ferner, dass drei von den Schleifen in der Längsachse des ovoiden Kernes orientiert sind, die drei anderen wenigstens einen Schenkel nach demjenigen Kernpol gerichtet haben, welchen die freien Enden der im ganzen orientierten V-förmigen Elemente einnehmen. Nun könnte man ja sagen, es sei wahrscheinlich hier der Knäuel gerade so formiert gewesen und schliesslich so durchgebrochen, dass die Segmente sich nach vollbrachter Knäuelzerschnürung in der vorgefundenen Lage befinden müssen. Es ist natürlich nicht nur möglich, sondern sogar wahrscheinlich, dass dies für eine oder die andere Schleife zutrifft. Wir brauchen nur den Knäuel der Fig. 34 zu betrachten, um zu erkennen, dass auch hier, wo unserer Darstellung zufolge nur ein Segment aus der Knäuelformation bereits ausgetreten ist, einige Schleifen und die Enden mehrerer anderer schon durch ihre Lage im Knäuel gegen einen Pol des Kernes gerichtet sind. Wenn aber schliesslich nach der Segmentierung des Knäuels eine bestimmte Orientierung seiner Elemente eintritt — und sie muss ja erfolgen, da wir am Ende dieser Entwicklungsperiode das Bukettstadium (Fig. 40—45) antreffen —, so ist es ja belanglos, ob die ordnenden Kräfte, die dabei im Spiele sind, alle Elemente in eine bestimmte Richtung führen oder nur einige davon, während sie auf andere, deren Verlauf der endlichen Orientierung schon von vornherein entspricht, nicht einzuwirken brauchen, ja sehr wahrscheinlich gar nicht einwirken können. Man pflegt sich das Zustandekommen der polaren Orientierung der Kernschleifen durch eine bestimmt gerichtete, den flüssigen Kerninhalt betreffende Strömung verursacht zu denken; unter dieser Vorstellung ist das soeben Gesagte wohl verständlich. Genug, wir dürfen von dem Vorgang einer Orientierung der Kernschleifen reden oder besser von einer solchen des gesamten geformten Kerninhalts. Denn wir werden sehen, dass diese Orientierung nicht nur die Chromatinelemente, sondern auch den Nukleolus betrifft. Bislang war es nicht nötig, von seiner Stellung im Kernraum zu sprechen; er lag stets exentrisch ohne erkennbare bestimmte Beziehung zur Chromatinformation des Kernes. Nun aber werden wir eine solche Beziehung nie vermissen. Denn im Bukettstadium

liegt der Nukleolus stets auf derjenigen Seite des Kernes, welcher die freien Enden der Schleifen zugekehrt sind. Und man kann nicht etwa sagen, dass der Nukleolus bei dem Vorgang der Orientierung der Kernschleifen richtunggebend wäre, dass er seine Lage behielte und die freien Enden der Schleifen durch irgend einen Attraktionsvorgang ihm zugewendet würden, sondern der Nukleolus und die Kernschleifen dürften in gleicher Weise von der ordnenden Kraft getroffen werden. Für diese Anschauung spricht das Beispiel der Fig. 37. In diesem Falle wäre es freilich nicht ausgeschlossen, dass die definitive Ordnung der Chromosomen von der vielleicht vorläufigen und scheinbaren, die dann eine zufällige wäre, abweichen und senkrecht zu dieser gerichtet schliesslich doch nach dem Nukleolus hin erfolgen würde; denn — darum gedenken wir dieser Möglichkeit — die Orientierung der Chromosomen im Bukett erfolgt wie das Beispiel der Fig. 40 erweist, durchaus nicht immer in der Richtung des längsten Kerndurchmessers und ist sicher keine blosse Raumfrage. Aber in der Regel sehen wir insbesondere bei deutlich ovoiden Kernen den Längsdurchmesser mit der Schleifenrichtung zusammenfallen, so dass es eine Annahme ohne zureichenden Grund wäre, wenn wir der erwähnten Möglichkeit einer Umordnung der Schleifen gegen den Nukleolus hin für unseren Fall wirklich Raum geben wollten. Halten wir aber daran fest, dass die bereits gegen den unteren Pol des Kernes der Fig. 37, Textfig. 18, gerichteten Schleifenenden auch dort bis zum voll entwickelten Bukett verbleiben, dann muss, da wir unseren Beobachtungen zufolge ein Bukett ohne gleichsinnige Orientierung des Nukleolus und der Schleifenenden nicht annehmen können, der Nukleolus seine Wanderung zum Schleifenendenpol des Kernes erst antreten oder vollenden. Gegen einen Zusammenhang zwischen Schleifenenden und Nukleolus im Sinne eines in dem letzteren gelegenen Attraktionszentrums sprechen ferner alle übrigen nunmehr zu betrachtenden Bilder; denn wir werden sehen, dass die Schleifenenden gar niemals zum Nukleolus konvergieren oder gar an ihm haften, sondern dass immer nur einige derselben in einer näheren, lediglich örtlichen Beziehung zum Nukleolus stehen.

Indem wir zum besseren Verständnis der Umordnung, welche sich an den Schleifen des Kernes der Fig. 37 zu vollziehen beginnt, bereits auf das Bukett als das Ziel dieses Prozesses hinweisen mussten, sind wir der geordneten Darstellung unserer Befunde

vorausgeeilt. Wir wollen zunächst noch in den Fig. 38 und 39 weitere Etappen der Chromatinschleifen-Orientierung vorführen.

Was den ersteren dieser beiden Kerne (Textfig. 19) betrifft, so ist hier der Nukleolus zwar dem Schleifenendenpol bereits nahegerückt, aber er befindet sich noch nicht in gleicher Höhe mit den Schleifenenden selbst, wie es meistens, aber nicht ausnahmslos, (siehe Fig. 41) beim Bukett der Fall ist. Von den Schleifen sind die mit I, II bezeichneten mit beiden Schenkeln in die Bukettstellung eingerückt, während die vier übrigen erst mit je einem Ende dort angekommen sind, die anderen Enden der Schleifen III, IV, V und VI scheinen sich auf der Wanderung zum Pol zu befinden.



Fig. 19.

Ganz analoge Verhältnisse finden wir an dem anderen Kern der Fig. 39.

Von dem vollendeten Bukettstadium sprechen wir dann, wenn sämtliche U-förmig abgebogenen Schleifen in der Richtung eines Kerndurchmessers orientiert sind, wenn also ihre Bügel nach der einen, die freien Enden ihrer Schenkel nach der entgegengesetzten Seite gerichtet sind (siehe Fig. 40—45). Dabei befindet sich, wie erwähnt, der Nukleolus auf der Seite der freien Schleifenenden: diese aber stehen annähernd in der gleichen Höhe und liegen entweder der Kernmembran direkt an oder befindet sich doch in deren unmittelbarer Nähe. Wie weit nun eine Schleife mit ihrem Bügel in den Kernraum hineinragt, hängt natürlich von ihrer Länge, aber auch von ihrer Form ab. Was die letztere betrifft, so beobachten wir recht mannigfache Abweichungen von der U-Form, bei welcher, wie z. B. an zwei Schleifen der Fig. 41 zu sehen ist, aus dem gleichmässig gerundeten Bügel zwei annähernd parallele und in einer einzigen Ebene fortlaufende Schenkel hervorgehen. Die Schenkel des U können nun gekrümmt oder geknickt verlaufen oder können zueinander konvergieren, sich schliesslich auch überkreuzen, andererseits sich so weit öffnen, dass ein weiterer Bogen entsteht. Die Schleife als Ganzes ist oft in ihrer Längsrichtung winkelig geknickt oder gebogen. Endlich findet man häufig Elemente, deren Schenkel im spitzen Winkel und nicht im Bogen zusammentreffen. In ihrer gegenseitigen Beziehung lassen die Schleifen keine Regelmässigkeit erkennen; sie liegen über-

einander, in der gleichen Ebene ineinander und sehr oft durchsetzen sie einander in mannigfacher Weise. Ihre Enden sind aber immer sehr deutlich unabhängig voneinander. Dies erkennt man sowohl in Profilansichten des Buketts, wie auch, wenn man wie bei dem Kern der Fig. 39 schräg von oben her auf die Enden hereinsieht oder wenn man, wie es in Fig. 45 dargestellt ist, das Bukett vom Bügelteil aus betrachtet.¹⁾ Dank der relativ weiten Abstände zwischen den freien Enden und der geringen Anzahl der Chromosomen kann man bei Zoogonus die Elemente des Bukettstadiums mit seltener Klarheit zählen.

In ihrem feineren Bau unterscheiden sich die Schleifen des Buketts nicht von dem Knäuel und seinen Segmenten vor der Orientierung; auch sie bestehen aus relativ groben, locker gefügten Chromatinschollen, die an einzelnen Stellen zusammengeschoben, an anderen wieder etwas weiter auseinander gerückt sein können, woher es kommt, dass innerhalb einzelner Schleifen hier und da Schwankungen des Kalibers beobachtet werden. Auch hinsichtlich des gelegentlichen Auftauchens von Längslichtungen oder Querkerben verhalten sich die Bukettschleifen wie ihre Vorläufer.

Nun trifft man Kerne von ausserordentlich locker gebauten und sehr blass gefärbten Elementen, deren Verlauf sich nur mit grosser Mühe feststellen lässt. Gelingt es aber einen solchen Oozytenkern zu analysieren, dann erweist es sich, wie die Fig. 46 zeigt, dass auch hier die reduzierte Anzahl von polar orientierten Schleifen vorhanden ist. Wie die Zeichnung erkennen lässt, sind einzelne Schleifen meistens zunächst am Bügelteil bereits so sehr in ihrer Struktur verändert, dass ihre Kontinuität kaum mehr zu erkennen ist.

Es kann kein Zweifel darüber bestehen, dass wir es hier mit Bukettstadien zu tun haben, deren Schleifen im Verblassen begriffen sind. Dieser Veränderung begegnet man zwar nicht allzuseiten, aber sie ist im Bilde sehr schwer wiederzugeben.

Geht dieser Vorgang weiter, so entstehen Kernbilder, von denen eines in Fig. 47 abgebildet ist. Hier sind nur mehr einzelne schwach gefärbte Züge und Schollen zu sehen und nur ein einziges

¹⁾ Fig. 45 stellt den seltenen Fall eines Buketts mit 7 Chromatinteilen dar; dies muss einschränkend zu dem auf S. 16 über die Anzahl der Bukettschleifen Gesagten bemerkt werden, ändert aber nichts an den die Chromosomen-Normalzahl betreffenden Ausführungen.

noch bestehen gebliebenes, immer noch polar orientiertes Element legt zuweilen Zeugnis davon ab, dass dieser Kern sich direkt vom Bukett herleitet. So geht der Oozytenkern allmählich in den Ruhezustand über, in dem wir ihn zu Anfang der Hauptwachstumsperiode (Fig. 55) antreffen werden.

b) Bemerkungen zur Methode der Untersuchung.

1. Die Erhebung der Befunde.

Goldschmidt (05, 09) hat von den demonstrierten Entwicklungsstadien der jungen Oozytenkerne nichts gesehen. Er spricht nur von einem „Knäuel“ in der frühen Wachstumsperiode und hat unter diesen nicht näher definierten Begriff alle Entwicklungsformen von den Kernen mit der Chromosomen-Normalzahl bis zum Bukett zusammengefasst. Aber auch die neueren Untersuchungen über die Oogenese von Trematoden (Schellenberg [11], v. Kemnitz [13]) haben nur einige wenige mit den unsrigen vergleichbare Kernformen aus der frühen Oozytogenese zur Darstellung gebracht.

Unter diesen Umständen ist eine Bemerkung über die Erhebung unserer Befunde wohl nicht überflüssig. Die einzelnen Entwicklungsstadien der Oozytenkerne sind natürlich nicht ohne weiteres im Ovarium des *Zoogonus* aufzufinden. Die vorgeführten Oozytenkerne, von jenen mit der Chromosomen-Normalzahl bis zu den dem Bukett unmittelbar vorausgehenden Stadien, bieten zunächst auf jedem optischen Querschnitt ganz genau das gleiche Aussehen. Um dies deutlich zu machen, haben wir in den Fig. 27a, 30a, 34a je einen optischen Querschnitt zu dem daneben gezeichneten Totalbild des betreffenden Kernes gegeben.¹⁾ So sehr sich die Totalbilder voneinander unterscheiden, es handelt sich um einen Kern mit der Chromosomen-Normalzahl, um einen kontinuier-

¹⁾ Bei den Totalbildern der jungen Oozytenkerne war es aus technischen Gründen notwendig, die Chromatinschleifen etwas dünner zu zeichnen als sie im Verhältnis zum ganzen Kern bei der angewandten Vergrößerung tatsächlich erscheinen. Die optischen Querschnitte geben das wirkliche Verhalten in dieser Beziehung möglichst richtig wieder; auch konnte hier der Kernraum, der nie so hell erscheint, wie er auf den Totalbildern der Klarheit zuliebe gelassen wurde, einen dunkleren Ton bekommen, welcher der ihm anhaftenden leichten Färbung entspricht. So kommt es, dass sich die Bilder der optischen Querschnitte von den Totalbildern in den genannten Punkten unterscheiden.

lichen Knäuel und um ein Segmentierungsstadium des Knäuels, so vollständig gleichartig ist das Bild ihres optischen Querschnittes. Nur das vollentwickelte Bukett (Fig. 44 a) ist von vornherein zu erkennen, weil hier die Schleifen aus einer Ebene in der Regel nicht erheblich abweichen. So konnten also die gezeigten Entwicklungsstadien des Oozytenkernes nur dadurch ermittelt werden, dass in jedem Falle alle im optischen Querschnitt vorliegenden Chromatinteile auf das Sorgfältigste nach höher und tiefer gelegenen Einstellungsebenen verfolgt wurden. Man kann vorher durchaus nicht sagen, ob sich herausstellen wird, dass zwölf Chromatinteile in einem solchen Kern gelegen sind, oder dass ein kontinuierlicher Knäuel vorliegt.

So halten wir es für höchst wahrscheinlich, dass verschiedene Etappen in der Oogenese anderer Trematoden deswegen verborgen geblieben sind, weil die allerdings schwer feststellbaren Unterschiede zwischen gleichartig aussehenden Kernen nicht beachtet wurden, sofern nicht, wie wir bei Besprechung der Arbeit Schellenbergs noch sehen werden, unzulängliche Konservierung den Einblick in diese Strukturen überhaupt unmöglich machten.

2. Die Synapsisfrage.

Während die Untersucher der frühen Oogenese anderer Trematoden, mit Ausnahme von v. Kemnitz (13, *Brachycoelium Salamandrae*), wie Goldschmidt (08, *Dicrocoelium lanceolatum*) und Schellenberg (11, *Fasciola hepatica*), in der Reihe der von ihnen beschriebenen Entwicklungsstadien auch das Synapsisstadium in der üblich gewordenen Weise schildern und abbilden, fehlt in unserer Darstellung der Kern mit dem einseitig zusammengedrängten Inhalt.

Wir haben uns daher in diesem Zusammenhang darüber zu äussern, ob in der frühen Oogenese des Zoogonus ein Synapsisstadium gar nicht vorkommt, oder aus welchen Gründen wir Kerne mit synaptisch „kontrahiertem“ Chromatinbestand, wenn uns solche begegnet sind, nicht unter die Entwicklungsstadien der Oozyte aufgenommen haben. Der letztere Fall ist gegeben. Wohl haben auch wir Kernbilder gefunden, die, wie die betreffenden Abbildungen (48—54) zeigen, den Synapsisstadien der genannten Autoren entsprechen. Aber wir sind zur Überzeugung gekommen, dass es

sich hierbei um nichts anderes handeln kann, als um Modifikationen der nicht synaptischen Entwicklungsstadien.

Wie wir früher schon (Wassermann, 12) dargelegt haben, hielten wir uns im Falle des *Zoogonus mirus* berechtigt, das synaptische Phänomen für ein Kunstprodukt der Fixierung oder für eine während des Lebens der Zelle eingetretene Kernschädigung zu erklären. Wo es eingetreten ist, verdeckt es den Ablauf der chromatischen Umlagerungen, die in den nicht synaptischen Kernen in einer der Wirklichkeit näher stehenden Form erhalten sind.

Dieser Standpunkt deckt sich zum Teil mit dem von Buchner (09) gegenüber der Synapsis eingenommenen. Buchner beschreibt nämlich (S. 347) Degenerationsformen der Spermatozytenkerne von Oedipoda, die ganz der von v. Winiwarter (00), von Popoff (07) oder von van Mollé (07) beschriebenen Synapsis gleichen. Andere Grade der Degeneration entsprechen wieder anderen synaptischen Zuständen, wie sie von Gross (04), Wilke (06) und Paulmier (99) abgebildet worden sind.

Da wir unsere Anschauung, dass eine Synapsis bei *Zoogonus* nicht existiert, bereits früher eingehend begründet haben, wollen wir im Rahmen dieser Arbeit nur kurz den Weg schildern, der uns zu der oben gekennzeichneten Stellungnahme geführt hat.

Zunächst war zu konstatieren, dass die „Synapsisstadien“ nur in einigen wenigen Ovarien unseres Objekts, und zwar gerade in solchen, deren Zellen nicht einwandfrei fixiert sind, zur Beobachtung kommen, während sie in der Regel und also in Ovarien, über deren vorzüglichen Konservierungszustand kein Zweifel sein kann, vollständig fehlen. Schon dieser Umstand musste eine skeptische Betrachtung der fraglichen Kernbilder veranlassen.

Dann aber war die weitere wichtige Tatsache hervorzuheben, dass in jenen Ovarien, welche die synaptischen Kerne aufwiesen, die anderen nicht synaptischen Chromatinformationen, die wir im vorstehenden geschildert haben, nicht ermittelt werden konnten.

Diese Wahrnehmung legte den Gedanken nahe, es möchten die Synapsisstadien und die nicht synaptischen, gut analysierbaren Kerne identisch sein. War dies zu erweisen, dann bestand keine Notwendigkeit, die synaptischen Figuren neben den anderen, die dann als die normalen zu gelten hatten, noch weiter zu berücksichtigen.

Der Nachweis der Identität zwischen synaptischen und nicht-synaptischen Kernen konnte tatsächlich geführt werden und zwar mit Hilfe von Übergangsformen, als welche z. B. der Knäuel der Fig. 31 und der Kern mit der diploiden Chromosomenzahl der Fig. 54 zu betrachten sind.

Es liess sich erweisen, dass die Stadien der Fig. 48—51 nur verschiedene Grade der Zusammenballung der frühen feinfädigen Kerne darstellen, wie sie durch die Oozyten der Fig. 19 bis 22 demonstriert worden sind. Neben der Fig. 54 ist wohl auch die Fig. 52 als das Bild eines Kernes mit der diploiden Chromosomenzahl zu betrachten, der normalerweise wie der durch die Fig. 23 wiedergegebene aussieht. Von den beschriebenen feineren Details ist infolge der Schrumpfung nichts mehr zu sehen, und man könnte, wenn man nur solche Kerne vor sich hätte, niemals eine Anschauung von der Entstehung der zwölf Chromosomen aus dem feinfädigen jungen Oozytenkern bekommen, ja, man würde überhaupt von dem Auftreten der Chromosomen in der Normalzahl angesichts von Bildern, wie das der Fig. 53 eines ist, keine Kenntnis erhalten. Ebenso wenig wäre es natürlich hier möglich, über die Chromosomenverkettung und die Knäuelbildung etwas zu erfahren; auch der Knäuel selbst und seine Zerfallungsstadien würden unter dem Bilde einer späten Synapsis verborgen sein.

Dann würde das Bild der Oozytenentwicklung sehr viel Ähnlichkeit mit dem von Schellenberg für die frühe Oogenese von *Fasciola hepatica* gegebenen erhalten. Nach Schellenberg verbleiben dort die Oozyten vom feinfädigen Anfangs- bis zum Bukettstadium im Zustand der Synapsis (Fig. 5—10 der zitierten Arbeit). Eine weitere Analyse solcher geschrumpfter Kerne war dem Autor natürlich nicht möglich. Wie fern es ihm auch lag, einen Versuch nach dieser Richtung zu unternehmen, geht daraus hervor, dass er nach einer der unsrigen ganz entgegengesetzten Methode verfuhr, indem er gerade diejenigen Kerne für die am meisten charakteristischen hielt, welche das synaptische Phänomen am deutlichsten zeigten. Er sagt in dieser Beziehung (S. 447): „Am besten geben diese frühe Phase der Synapsis die mit ‚Zenker‘ konservierten Präparate wieder“ und „zum Studium der älteren synaptischen Stadien benützen wir besser mit 70proz. Alkohol konservierte Präparate“. Ein solches Verfahren ist unseres Erachtens der sicherste Weg, um die Erkennung der von uns

ermittelten Chromatiumlagerungen unmöglich zu machen! Dabei ist sich Schellenberg dessen wohl bewusst, dass „die starke Zusammenziehung des Knäuels“ „zweifelloos ein Konservierungsartefakt“ ist, „denn bei anderen Reagenzien zeigt sich diese extreme Kontraktion nicht“. Wenn er dann fortfährt: „Aber gerade durch diese künstliche Kontraktion werden die Bilder in bezug auf das hier besonders interessierende Moment prägnant etc.“, so müssen wir dieser Methode die ganz selbstverständliche Forderung entgegenhalten, dass es unsere Aufgabe ist, die schädigende Wirkung der Fixierung auf ein unvermeidliches Mindestmaß einzuschränken und nur die Kerne zur Untersuchung heranzuziehen, welche die allgeringste Schädigung erlitten haben und somit dem Zustand, wie ihn das lebende Objekt besass, am nächsten kommen. Eine andere Richtschnur gibt es hier nicht; und wenn die am besten konservierten Kerne gewisse interessierende Momente, wie in diesem Fall die Duplizität des Fadens, weniger deutlich zeigen als andere oder gar nicht erkennen lassen, dann muss das Interesse an diesen Momenten eben fallen gelassen werden; denn dann handelt es sich um Kunstprodukte.

Von den Figuren Schellenbergs stellen die mit 5—8 bezeichneten die frühen feinfädigen Stadien dar. Wir können nach den an unserem Objekt gewonnenen Erfahrungen nicht glauben, dass der verschiedene Grad der Synapsis einer Verschiedenheit in der Entwicklungsstufe dieser Kerne entspricht, sondern es wird sich hier um eine verschiedene Grösse der Fixierungsschädigung bei ein und demselben Stadium handeln. In den Fig. 9 und 10 der Schellenbergschen Arbeit verbirgt sich unter der starken Schrumpfung wohl ein kontinuierlicher Knäuel; für die Fig. 10 scheint dies ganz sicher zuzutreffen. Hier handelt es sich um einen Kernfaden, der um ein geringes stärker zusammengedrängt ist als unser geschrumpfter Knäuel der Fig. 31. Wäre dieser noch etwas mehr zusammengeschoben, so könnte man bei ihm ebensowenig wie bei dem Schellenbergs die Kontinuität feststellen. Was das Bukett anbelangt, so ist es auch bei *Fasciola hepatica* recht klar zu erkennen. Über das zweite nicht reduzierte Bukett, welches Schellenberg bei seinem Objekt gefunden hat, werden wir später sprechen (siehe S. 51).

Es ist ferner noch bemerkenswert, dass unter unseren „synaptischen“ Oozyten Beispiele gefunden werden können, die

den von Goldschmidt (08) bei *Dicrocoelium lanceolatum* beschriebenen Kernen im Synapsisstadium ganz gleich sind. Man halte unsere Fig. 48 gegen den nebenstehenden „Oozytenkern in der



Fig. 20.

ichten Synapsis“ (Textfig. 20), welcher der Goldschmidtschen Arbeit (Fig. 4) entnommen ist, und man wird zugeben, dass sich die beiden Kerne in jedem wesentlichen Zug vollständig entsprechen. Es ist nur eine unabweisbare Konsequenz aus dem oben Fest-

gestellten, wenn wir auf Grund eines solchen Vergleiches die von Goldschmidt gelieferte Beschreibung der frühen Oogenese von *Dicrocoelium* in diesem Punkte sehr skeptisch betrachten.

3. Begründung der Seriierung.

Im Ovarium des Zoogonus sind die Entwicklungsstadien der Oozyten nicht in einzelne Schichten geordnet, deren räumliche Aufeinanderfolge die genetischen Beziehungen zwischen den verschiedenen Kernformen würden erkennen lassen. Was die Grösse der einzelnen Kerne anlangt, so ist sie relativ beträchtlichen individuellen Schwankungen unterworfen. Wäre es möglich, einem einzigen Ovarium sämtliche Entwicklungsstadien des Oozytenkernes zu entnehmen, so würden sich diese wohl in eine Reihe von steigender Grösse ordnen lassen; da aber die vorgeführten Kernbilder aus verschiedenen Ovarien stammen, können etwaige Grössenunterschiede nicht als Anhaltspunkte zur Seriierung gebraucht werden.

Unter diesen Umständen muss die Frage erwogen werden, nach welchen Gesichtspunkten eine Entwicklungsreihe aus den aufgefundenen Zustandsbildern der Kerne zusammengestellt werden kann. Darauf dürfen wir zunächst antworten, dass neben den Hauptetappen der Oozytenentwicklung, welche wir in der Ausgangsform, d. h. dem feinfädigen Oozytenkern, dem Stadium mit der diploiden Anzahl von Chromatinelementen, dem kontinuierlichen Knäuel und dem Bukettstadium sehen, eine Reihe von anderen Kernformen zur Beobachtung gekommen sind, die den kontinuierlichen Übergang von einer Hauptetappe zur anderen ganz sicherstellen. So hat die gelieferte Beschreibung der Entwicklungsstadien zugleich den genetischen Zusammenhang derselben erwiesen. Von der Richtigkeit unserer Seriierung werden

wir aber erst dann überzeugt sein, wenn sie gegenüber jedem Einwand, den man gegen sie erheben könnte, aufrecht erhalten werden muss.

Wir haben die Entwicklungsstadien des Oozytenkernes so angeordnet, dass sie als Phasen eines von der Ausgangsform bis zum Bukett verlaufenden Prozesses erscheinen. Nun hat uns aber z. B. Skrobansky (03) durch seine Beschreibung der Oogenese beim Schwein ein Beispiel für die Annahme gegeben, dass auf ein im Anfang der Entwicklung auftretendes Synapsis-stadium, während dem der Vorgang der numerischen Chromosomenreduktion stattfindet, das Bukettstadium und auf dieses erst als letzte Etappe vor der Hauptwachstumsperiode der Knäuel folgen kann. Übertragen wir diese Anschauung auf unseren Fall, so hätten wir etwa an ein Kernbild der Fig. 22 das Bukettstadium anzuschliessen¹⁾ und jene Chromatinformationen, die wir als Übergänge vom Knäuel zum Bukett betrachtet haben, würden umgekehrt vom Bukett zum Knäuel führen. Dann hätte der Knäuel auch keine Beziehung zur Reduktion mehr; diese würde vor dem Bukettstadium erfolgen und ihr Zustandekommen wäre nicht aufgeklärt. Die Möglichkeit, dass eine solche Serrierung hier zu treffen ist, kann aber mit voller Sicherheit ausgeschlossen werden; denn das Bukettstadium ist das Endstadium der ersten Periode der Oozytenentwicklung des *Zoogonus*. Dafür spricht erstens der Umstand, dass von den gezeigten Kernformen das Bukettstadium allein in manchen Fällen eine Grösse erreicht, die der Kerngrösse von Oozyten im Anfang der Hauptwachstumsperiode gleichkommt. Um dies zu veranschaulichen, haben wir neben das Bukett der Fig. 44 und 46 den grössten Durchmesser eines Oozytenruhekernes der Hauptwachstumsperiode aus demselben Ovarium gezeichnet (Fig. 44b und 46a). Dagegen zeigt ein Vergleich der Knäuelstadien der Fig. 33 und 34 mit der entsprechenden Grösse (Fig. 46b), dass diese vor dem Bukett gelegenen Stadien die am Ende der ersten Periode erreichte Grösse noch nicht besitzen. Wenn die Bukettstadien allein in dieser Grösse angetroffen werden, so beweist das, dass sie dem Ruhekern der Hauptwachstumsperiode unmittelbar vorausgehen.

¹⁾ Dazu könnte die besprochene (siehe S. 23), in dem Kern der Fig. 23 beobachtete, vielleicht durch die Fixierung hervorgerufene polare Orientierung der nicht reduzierten Elemente zunächst verleiten.

Dann aber beweisen auch die Chromatinauflösungsfiguren, die wir beobachten konnten und beschrieben haben (S. 38), dass es das Bukettstadium ist, welches in die Ruhestuktur des Oozytenkernes eingeht und nicht etwa der Knäuel. Es ist demnach in unserem Fall unmöglich, zwischen dem kontinuierlichen Knäuel und dem Bukett eine andere genetische Beziehung als die beschriebene anzunehmen oder irgend ein anderes der gezeigten Stadien nach dem Bukett in die Entwicklung einzuordnen. Letztere Möglichkeit, so ferneliegend sie zunächst erscheinen mag, ist deshalb eigens von der Hand zu weisen, weil Schellenberg bei *Fasciola hepatica* nach dem Bukett mit der reduzierten Anzahl von Chromatinelementen ein zweites nichtreduziertes angenommen hat, ohne allerdings, wie wir später zeigen werden, für diese Serierung irgend einen Grund anzugeben.

Wenn demnach die Beziehungen zwischen Knäuel und Bukett durchaus sichergestellt sind, so bleibt noch die zweite Hauptfrage, ob auch die Entstehung des Knäuels aus zwölf Chromatinelementen sich aus den vorhandenen Kernbildern mit Recht folgern lässt. Denn man könnte einwenden, dass jene Chromatinformationen, welche uns vom sekundär gekerbten Knäuel bis zur vollständigen Segmentierung zu führen schienen, ebensogut den Aufbau des Knäuels aus sechs Elementen darstellen könnten. Dabei würden die besprochenen Beziehungen zwischen Knäuel und Bukett doch zu Recht bestehen. Dieselben Bilder würden eben dann der Ausdruck für den Aufbau und für den Abbau des Knäuels sein und man könnte im einzelnen Fall nicht entscheiden, zu welcher Etappe die jeweils vorliegende Figur gehörte. Auch in diesem Fall bestünde kein Zusammenhang zwischen der Chromosomenreduktion und dem Knäuel. Die Serierung wäre dann so zu treffen, dass aus einem Stadium, wie es durch die Fig. 21 repräsentiert wird, also aus einem leptozygotaenen Kern, die reduzierten Schleifen hervorgehen, wie sie etwa in der Fig. 37 vorliegen, und dass diese Schleifen sich zum Knäuel zusammenordneten. Eine solche Aufreihung der genannten Kernbilder würde den Tomopteris-Typus der Chromosomenreduktion von A. und K. E. Schreiner auch auf den Zoogonus anwenden lassen. Aber sie ist völlig ausgeschlossen, da wir ja Kerne aufgefunden haben, welche zwölf Chromatinelemente enthalten und darunter solche, in denen eine Verkettung der Chromosomen zu längeren Fäden stattgefunden

hat. Die in Erwägung gezogene Serrierung könnte nur unter Ausserachtlassung dieser Stadien getroffen werden. Sie müssen aber, da zwischen Knäuel und Bukett und auch nach dem Bukett kein Raum für sie sein kann, notwendigerweise vor den Knäuel gestellt werden, wobei wir zunächst ganz davon absehen können, dass sie schon deswegen an den Anfang der Oozytenentwicklung gehören, weil sie sich aus den jüngsten Stadien mit Sicherheit ableiten lassen. So ergibt sich also die von uns gegebene Interpretation, dass der Knäuel, der in sechs Elemente zerfällt, aus zwölf Elementen entstanden ist, aus den vorliegenden Bildern mit zwingender Notwendigkeit.

Wir haben hier noch einem weiteren Bedenken zu begegnen: Wäre es nicht möglich, dass die Kerne mit der Normalzahl der Chromosomen (Fig. 24—29) überhaupt keine Oozytenkerne sind, sondern Oogonienkerne im Zustand der Prophase? Diese Frage muss aufgeworfen werden, damit derjenige, welcher unser Objekt nicht kennt, ihre Stellung und Beantwortung nicht vermisst. Gerade weil wir bei *Zoogonus* ein Ovarium haben, in welchem die einzelnen Kernformen nicht schichtenweise voneinander getrennt sind, wäre ja eine derartige Verwechslung nicht von vornherein ausgeschlossen. Tatsächlich aber ist es nicht möglich, Teilungsstadien der Oogonien mit den fraglichen Oozytenkernen zu verwechseln. Die Prophase einer Oogonienmitose ist in Fig. 13 abgebildet. Ein Vergleich dieser Figur mit einem der in Betracht kommenden Oozytenkerne lehrt, dass zwischen beiden ein in die Augen springender Unterschied besteht. Zwar sind beide an Grösse nicht erheblich voneinander verschieden und besitzen beide zwölf Chromosomen, aber eben die Chromosomen bilden ein auffallendes Unterscheidungsmerkmal. In dem Prophasenkern haben wir, wie bei der Mitose **anderer Zellen, kompakte**, sich stark färbende und scharf konturierte Elemente, im Oozytenkern **dagegen** schwach gefärbte, unscharf konturierte, schollige Elemente, wie sie in ganz gleicher Art auch in den späteren Oozytenkernen immer wieder auftreten. Wollte man trotzdem noch nicht jedes Bedenken fallen lassen und erwägen, ob nicht das als Oozytenkern angesprochene Stadium vielleicht eine frühere Prophase der Oogonienteilung darstellte als die, mit der wir es **soeben verglichen haben**, so ist das schon durch den Hinweis darauf auszuschliessen, dass die Oogonienmitosen überhaupt im Gegensatz zu den Oozyten-

stadien mit der Chromosomen-Normalzahl nur sehr selten vorkommen. Hat doch Goldschmidt überhaupt keine Oogonienmitosen beobachtet und konnten auch wir nur einige wenige feststellen. Sollte man unter diesen Umständen einräumen müssen, dass gerade gewisse ungewöhnlich aussehende Prophasenstadien, die man zunächst gar nicht für solche halten möchte, die einzige häufiger vorkommende Teilungsfigur der Oogonienmitose wäre? Das würde unseren diesbezüglichen Erfahrungen über die Zellteilung direkt widersprechen. Bringt man dann noch den Umstand mit in Rechnung, dass von diesen Oozytenkernen mit der Chromosomen-Normalzahl alle Übergänge zum kontinuierlichen Knäuel aufgefunden werden konnten, dann muss das vorgebrachte Bedenken auch für den, der das Objekt nicht kennt, schwinden.

So ist also unsere Seriierung: Oozytenkerne mit zwölf Chromatintei len — kontinuierlicher Knäuel — Oozytenkern mit sechs Chromatinschleifen — Bukett, nicht nur eine wahrscheinliche, sondern sie ergibt sich als die allein mögliche mit Notwendigkeit aus den vorliegenden Tatsachen.

Nach all dem Gesagten ist eine weitere Begründung der Beziehung zwischen den Kernen mit zwölf Chromatintei len und den frühesten Stadien, in welche wir die Herausbildung eben jener Elemente verlegt haben, wohl nicht nötig. Über die feinfädigen Kerne, die sich gegenüber dem Oogonienruhekern als jüngste Oozyten unterscheiden liessen, sei nur das eine hier bemerkt, dass wir nicht glauben, sie als Oozyten-Ruhekerne ansprechen zu sollen. Dass auf die letzte Oogonien- bzw. Spermatogonienteilung ein Ruhestadium folgt, ist von den meisten Autoren angegeben worden. So beschreiben z. B. Maréchal und de Saedelaer (10) bei Raja einen Oozyten-Ruhekern („Repos initial oocytaire“) und sagen im Zusammenhang mit dieser Feststellung: „L'existence très générale de ce premier repos oocytaire semble devenu un fait acquis, et nous jugeons superflu de reprendre, à propos des Rajides, la démonstration faite précédemment par l'un des nous pour les Squales: les arguments d'ailleurs seraient de tout point identiques“. Hier wird also der auf die letzte Oogonienteilung folgende Ruhekern Oozyten-Ruhekern genannt. Wir halten aber dafür, dass v. Winiwarter und Sainmont (09) die richtigere Ausdrucksweise gefunden haben, wenn sie sagen: „L'oogonie après

un nombre indéterminé de mitoses, rentre au repos. Mais bientôt de nouvelles modifications surviennent“. Diese Autoren bezeichnen damit nämlich den auf die letzte Oogonienteilung folgenden Ruhekern noch als Oogonien-Ruhekern und beginnen die neue Periode der Entwicklung, d. h. die Oozyten-Entwicklung mit den Veränderungen, die bald an dem Ruhekern einsetzen. So glauben wir auch die Verhältnisse bei *Zoogonus* beurteilen zu müssen. Den feinfädigen Oozytenkern, von dem wir ausgegangen sind, können wir wohl nicht mehr als Ruhekern betrachten; nach Analogie mit anderen Objekten und im Vergleich zu den eigentlichen als Oogonienkerne bezeichneten Ruhekernen im Ovarium selbst, scheinen diese frühesten Oozytenkerne vielmehr ganz jungen Prophasenstadien vergleichbar zu sein. Was das Ruhestadium betrifft, welches auf die letzte Oogonienteilung folgt, so wird sich dieses von den zwischen zwei Oogonienmitosen gelegenen wahrscheinlich nicht unterscheiden und kann daher in unserem Ovarium nicht ermittelt werden. Wir haben diese Überlegung angestellt, weil wir glauben, dass die Erwägung, ob ein Oogonien- oder ein Oozyten-Ruhekern auf die letzte Teilung der Vermehrungsperiode folgt, nicht nur die Nomenklatur betrifft, sondern dass es sich auch dabei um eine Diskussion über das Wesen der vorliegenden Erscheinungen handelt. Das Problem, welches durch die Erörterung über die Bezeichnung des Anfangsstadiums der Oozytenentwicklung angeschnitten wird, liegt unseres Erachtens in der Frage nach dem Zeitpunkt, in dem die zur Geschlechtszelle sich entwickelnde Zelle diejenigen Faktoren treffen, welche dem Kern derselben seine besonderen „heterotypischen“ morphologischen Charaktere aufprägen. Es tritt uns also hier ein Teilproblem der auf die kausale Erklärung der Gonozytenentwicklung überhaupt gerichteten Bestrebungen entgegen. Wir werden später Gelegenheit nehmen, an dem Beispiel der frühen Oogenese des *Zoogonus* den Versuch zu einer kausalen Erklärung der hier beobachteten Chromatiumlagerungen zu demonstrieren.

c) Die frühe Oogenese von *Fasciola hepatica* L.

Von den bis jetzt vorliegenden Untersuchungen über die Oogenese bei Trematoden ist nur die von Schellenberg (11) an *Fasciola hepatica* ausgeführte in bezug auf die frühe Oozytenentwicklung zu einem Vergleich mit unseren Befunden geeignet;

die Arbeit von Goldschmidt (08) über *Dicrocoelium* und die neuerdings erschienene Bearbeitung der Oogenese von *Brachycoelium salamandrae* von v. Kemnitz (13) sind in dem hier interessierenden Teil allzu wenig vollständig.

Wir sind schon gelegentlich der Erörterung der Synapsisfrage auf die einschlägigen Stadien der Oogenese von *Fasciola hepatica* zu sprechen gekommen. Wenn wir auf die dort begründeten Feststellungen verweisen, so können wir uns kurz dahin zusammenfassen, dass die Stadien der Oogenese von *Fasciola hepatica*, welche in unserer Serie zu fehlen scheinen, ihr eigenartiges Aussehen lediglich infolge von Fixierungsschädigungen erhalten haben und sich unschwer mit Hilfe von ebenfalls unzulänglich fixierten Kernen unseres Objekts, die ihnen gleichen und andererseits bestimmten wohlfixierten Kernbildern unseres Objekts entsprechen, auf unsere Chromatinformationen zurückführen lassen und dass, dies vorausgesetzt, sämtliche Hauptstadien, die wir für die frühe Oogenese des *Zoogonus* beschrieben haben, auch bei *Fasciola hepatica* von Schellenberg (11) gesehen und abgebildet worden sind.

Schellenberg (11) demonstriert die frühe Oogenese durch die in den Fig. 5—16 abgebildeten Stadien. Man sieht, dass die Schilderung dieser Periode nur mit Rücksicht auf die anderen Arbeiten über die Trematodenoogenese, welche in diesem Punkt noch weniger ausführlich sind, eingehend genannt werden kann. Wir erkennen in diesen Figuren die frühen feinfädigen Oozytenkerne (Fig. 5, 6, 7, 8), die hier allerdings je nach dem Grade der „synaptischen“ Verklumpung des Kerninhaltes als Repräsentanten verschiedener Entwicklungszustände aufgeführt sind, dann sehen wir Oozytenkerne mit der Normalzahl der Chromatinelemente (Fig. 15, 16), ferner den Knäuel (Fig. 9 und 10) und das Bukettstadium (Fig. 11 und 12).

Nun werden aber diese Stadien nicht in der Reihenfolge, wie wir sie aufgeführt haben, seriiert, sondern auf die feinfädigen bzw. synaptischen Stadien soll hier unter Auflockerung des synaptischen Knäuels der dicke, immer noch einseitig zusammengedrückte, nach Analogie mit unserem Stadium als kontinuierlich zu bezeichnende Kernfaden folgen und aus diesem soll sich das Bukett mit der reduzierten Schleifenanzahl entwickeln. Schliesslich aber werden nach dem Bukett die Kerne mit der diploiden Chromosomenzahl aufgeführt.

Was Schellenberg (11) zu dem höchst merkwürdigen Vorkommnis, dass die im Bukett vollzogene Reduktion wieder aufgehoben wird, bemerkt, ist folgendes (S. 448): „Die zum Teil verschiedenen langen Schleifen (d. h. des Buketts) spalten sich anscheinend sehr bald, nachdem sie sich aus dem Knäuel losgelöst haben, der Quere nach und stellen sich wiederum mit ihren freien Enden auf den synaptischen Kernpol ein, an dem auch der Nukleolus liegt“. Beweise aber dafür, dass sich der vermutete Vorgang wirklich abspielt, vermissen wir ganz und gar. Die Tatsache, dass sich die Bukettfäden bald der Quere nach durchteilen, soll dadurch erwiesen werden, dass je eine Schleife der beiden abgebildeten Bukettstadien einen Querspalt zeigt. Wir wollen ganz davon absehen, dass auch wir solche quere Dehiszenzen in den reduzierten Elementen hier und da gesehen haben, ohne den geringsten Anhaltspunkt dafür zu finden, dass die Doppelemente wieder in ihre Komponenten auseinander fallen, sondern wollen nur daran erinnern, dass auch vor Schellenberg (11) z. B. von Popoff (07) bei *Paludina* quere Unterbrechungen in den reduzierten Schleifen der frühen Oogenese beobachtet worden sind und dass dieser Erscheinung niemand die ihr von Schellenberg zuerkannte Bedeutung beigelegt hat. Wollte Schellenberg (11) gegenüber der geltenden Anschauung, dass die quere Unterbrechung lediglich der Ausdruck der Zusammensetzung der Chromatinelemente aus zwei endvereinigten Chromosomen sei, eine neue Interpretation geben, so hätte er zeigen müssen, dass die quere Unterbrechung an den Schleifen seines Buketts besonders häufig aufträte und besonders weit klaffe, er hätte Übergänge von dem reduzierten Bukett zu dem nichtreduzierten suchen und demonstrieren müssen. Keine dieser selbstverständlichen Forderungen ist von ihm erfüllt worden. Nach dem Bukett wird ganz unvermittelt, ohne dass irgend eine Beziehung zu diesem herstellbar wäre, ein Kern gezeigt, der regellos gelagerte kürzere Chromosomen in der Normalzahl enthält. Er ist noch dazu kleiner als die vorhergehenden Stadien und muss daher eine Ausnahme gegenüber den anderen bilden, für die es offenbar allein gelten kann, dass die Kerngrösse der Oozyte „während der eben beschriebenen Phase“, d. h. während unserer ersten Periode der Oogenese, „von etwa 6 auf 11 μ Durchmesser hinaufgegangen“ ist. Was die weitere Tatsache betrifft, dass die Chromosomen, nachdem sie aus

der Reduktion wieder befreit sind, nochmals eine polare Orientierung erfahren, so ist dies ja von untergeordneter Bedeutung im Hinblick auf die Seriiierung. Es ist zwar richtig, dass in der Fig. 14 Schellenbergs, der einzigen, die das nicht reduzierte Bukett vorführt, einige, durchaus nicht alle Schleifen bügelförmig gegen den Nukleoluspol gekehrt sind. Auf Grund unserer Erfahrung, die uns in dem in der Fig. 54 abgebildeten Kern ein Beispiel dafür gibt, dass auch die Kerne mit der nichtreduzierten Chromosomenzahl gelegentlich einmal eine einseitige Zusammendrängung ihres Inhalts bei der Fixierung erfahren können, die dann den Anschein einer polaren Orientierung ergibt, müssen wir sagen, dass die Schellenbergsche einzige nichtreduzierte Bukettfigur höchst wahrscheinlich bloss eine rein äusserliche Ähnlichkeit mit dem wahren Bukett besitzt. Dass die Chromosomen hier im Gegensatz zu denen des Kerns der Fig. 13, wo sie „noch nicht“ polar orientiert sind, einseitig zusammengeschoben sind, sieht man ja ohne weiteres. Es ist überdies gar nicht unmöglich, dass es sich bei dem Kern der Fig. 14 von Schellenberg um ein durch die Fixierung alteriertes Knäuselsegmentierungsstadium handelte. Jedenfalls kann ein so ungewöhnliches Kernbild, wie es ein nichtreduziertes Bukett wäre, nicht durch eine einzige Figur als wirklich existierend erwiesen werden. Es ist also von Schellenberg gar kein Anhaltspunkt dafür beigebracht worden, welcher es rechtfertigen würde, die Kerne mit der Chromosomennormalzahl als aus dem Bukett hervorgegangen zu bezeichnen.

Nur ein Moment könnte angeführt werden, das die Seriiierung Schellenbergs begreiflich erscheinen lässt. Der Autor fand nämlich nach dem Ruhekern der Hauptwachstumsperiode in der Prophase der ersten Reifungsteilung gelegentlich anstatt der reduzierten Anzahl von Chromosomen die Normalzahl derselben und sieht hierin eine Bestätigung der Existenz des Goldschmidtschen „Primärtypus“ der Reduktion. Diese Tatsache würde freilich verständlicher sein, wenn in den Ruhekern der Oozyte die nichtreduzierte Chromosomenzahl einträte und erst kurz vor der ersten Reifungsteilung nach dem Ophryotrocha-Typus von Korschelt (95) eine Tetradenbildung, deren gelegentliches Unterbleiben dann nichts Befremdendes an sich hätte, erfolgen würde. Dass solche Erwägungen Schellenberg in seiner Auffassung der frühen Oogenese beeinflusst haben, erscheint nicht

unmöglich. Es sei zunächst dahingestellt, ob das sporadische Auftreten des „Primärtypus“ in den Eiern von *Fasciola hepatica* einwandfrei erwiesen ist, jedenfalls kann der Umstand, dass gewisse Vorkommnisse der späteren Eireifung besser verständlich wären, wenn die vollzogene Reduktion der Chromosomen vor Eintritt des Oozyten-Ruhestadiums wieder aufgehoben würde, nun und nimmer als Beweis dafür gelten, dass die Wiederaufhebung der Reduktion wirklich stattfindet. Wenn somit die Berechtigung der von Schellenberg getroffenen Serrierung nicht erwiesen ist, so steht der Annahme kein Hindernis entgegen, dass dieselben Stadien bei *Fasciola hepatica* und bei *Zoogonus* auch dieselben genetischen Beziehungen zueinander haben.

Wir können also sagen, dass die frühen oogenetischen Kernveränderungen bei *Zoogonus mirus* und bei *Fasciola hepatica* im grossen und ganzen in gleicher Weise ablaufen. Die von Schellenberg (11) gelieferte Beschreibung der Oogenese von *Fasciola hepatica* stimmt nur insofern nicht mit den von uns dargestellten entsprechenden Vorgängen bei *Zoogonus* überein, als hier die Hauptstadien der Entwicklung in weitaus klareren Bildern zur Anschauung gebracht werden konnten, was zum Teil auf bessere Fixierungsergebnisse zurückzuführen sein dürfte, und dass ferner bei *Zoogonus* auch die die Hauptstadien verbindenden Übergangsbilder aufgefunden werden konnten, wodurch eine richtige Serrierung der Entwicklungsstadien überhaupt erst möglich wurde.

d) Allgemeiner Teil.

1. Die Entstehung der reduzierten Chromatinelemente.

a) Der gegenwärtige Stand der Frage.

Meves (07) hat die Anschauung vertreten, dass die Tatsache der numerischen Chromosomenreduktion vorerst nicht erklärt werden könne. Man dürfe lediglich sagen, dass in der Prophase der ersten Reifungsteilung nicht wie in den entsprechenden Stadien der somatischen Mitosen die für die betreffende Art spezifische Zahl von Chromatinelementen, sondern nur die Hälfte derselben aus dem Prophasenknauel hervorgehe.

Mit diesem Standpunkt befindet sich Meves im Gegensatz zu der allgemein angenommenen, zuerst durch die Befunde von

Henking im Jahre 1891 nahegelegten Vorstellung, dass die Chromosomen der ersten Reifungsteilung bivalente Elemente sind, entstanden durch eine Koppelung je zweier Einzelchromosomen.

Was aber die Art der Chromosomenpaarung betrifft, so gehen hierüber bekanntlich die Anschauungen nach den zwei möglichen Richtungen auseinander.

vom Rath (92), Haecker (93) und Rückert (94) haben angenommen, dass ein kontinuierlicher Knäuel in der Prophase der ersten Reifungsteilung in die haploide Anzahl von Chromatinelementen zerfalle, wobei immer zwei Chromosomen miteinander endweise verbunden bleiben. Später glaubte dann Montgomery (93) zeigen zu können, dass in dem Synapsisstadium je zwei bis dahin getrennte Chromosomen mit ihren Enden zusammentreten. Beide Anschauungen fallen unter den Begriff der Theorie von der Endvereinigung der Chromosomen (end to end — Konjugation, Metasyndese). Die neueren Verfechter dieser Anschauung sind insbesondere Montgomery, Farmer und Moore, Foot und Strobell, Wassilieff, Popoff, Goldschmidt und Buchner.

Die weitaus grössere Zahl der Untersucher steht aber auf dem zweiten Standpunkt, der in der Theorie von der parallelen Konjugation der Chromosomen (Parasyndese) gegeben ist. Als die Hauptvertreter dieser Richtung seien genannt: Grégoire, Jannsens, A. und K. E. Schreiner, K. Bonnevie, v. Winigarter, Lundegårdh, Strasburger und Vejdovsky.

Man muss mit Rücksicht auf die Frage, ob eine der beiden Reifungsteilungen eine Reduktionsteilung im Sinne Weismanns ist oder ob keine echte qualitative Chromosomenreduktion erfolgt, hervorheben, dass die genannten Vertreter der Theorie der Parallelkonjugation wieder in verschiedene Gruppen zerfallen, je nachdem sie annehmen, dass lediglich eine Paarung der Chromosomen vor sich geht, dass der die Paarlinge trennende Längsspalt sich bis zur ersten Reifungsteilung erhält und dann an Stelle eines äquationellen Längsspaltes der gewöhnlichen Mitose in die Äquatorialebene der ersten Reifungs- und also Reduktionsteilung eingestellt wird, oder ob sie, wie namentlich Bonnevie und Vejdovsky, erklären, dass die Vereinigung der Paarlinge bis zur völligen Verschmelzung zu einem Mixochromosom fortschreitet, welches dann in den beiden Reifungsteilungen zweimal äquationell geteilt wird.

Diese Frage ist aber für unsere Betrachtung nicht von Belang, ebensowenig wie die zuerst von Montgomery aufgestellte und mit beiden Arten der Chromosomenpaarung vereinbare These der Konjugation je eines väterlichen und mütterlichen Chromosoms in der reifenden Geschlechtszelle, in der bis zum Moment der Herabsetzung der Chromosomenzahl die elterlichen Elemente unabhängig voneinander bestehen sollen.

Über den Zeitpunkt der Chromosomenpaarung liegen verschiedene Angaben vor. Nach dem Vorgang Montgomerys haben auch Vertreter der Parasyndese die Reduktion in das Synapsisstadium verlegt; insbesondere v. Winiwarter und Sainmont (09) haben für die Säugetieroogenese eine solche synaptische Syndesis (Häcker) beschrieben. Die meisten Untersucher, wie z. B. Grégoire, Bonnevie, Jannsens und Vejdovsky, verlegen die Parallelkonjugation aber an den Anfang der Gonozytogenese, indem sie nach dem Vorgang von Strasburger und insbesondere von A. und K. E. Schreiner, welche letztere diesen Typus zuerst in den Spermatozyten von *Tomopteris* festgestellt haben (*Tomopteristypus*), annehmen, dass innerhalb des feinfädigen Kerngerüsts der jungen Geschlechtszellen (*Leptonema*) sich die Chromosomen in Gestalt parallel und paarweise angeordneter Fäden herausdifferenzieren (*Zygonema*), also die Paarung vor dem Synapsisstadium und unabhängig von ihm an den gewissermassen in statu nascendi befindlichen Chromosomen vor sich gehe (präsynaptische Parasyndese nach Häcker).

Die Mehrzahl der Untersucher der tierischen und pflanzlichen Gonozytogenese ist also für die Theorie der Parallelkonjugation eingetreten, und es waren gerade führende Männer auf diesem Gebiete, wie Grégoire und Strasburger, welche diese Theorie aufgriffen und in Gemeinschaft mit ihren Schülern ausgebaut haben. Weiterhin haben Grégoire und das Ehepaar Schreiner, nachdem sie einmal die Überzeugung von der Existenz der Parasyndese gewonnen hatten, diesen Vorgang bei einer ganzen Reihe von Objekten zu demonstrieren versucht. Dass die genannten Autoren bei diesem Bemühen aber auch fehlgegangen sein können, das beweist der Fall des *Zoogonus mirus*, und wir müssen gerade darauf später noch hinweisen.

Die neueren Untersucher der frühen Gonozytogenese haben, wahrscheinlich zum Teil unter dem Einfluss der als Arbeits-

hypothese dienenden Vorstellung von der Parasyndese, eine Reihe von morphologischen Details ermittelt, die mit der genannten Theorie zunächst im besten Einklang zu stehen scheinen, wenn man die Bedenken, die wir später namhaft machen werden, und von denen einige von Fick (08), Goldschmidt (08) und Meves (08) schon hervorgehoben worden sind, nicht für beachtenswert genug gegenüber den vorgebrachten positiven Argumenten hält. Von der grossen Zahl der zugunsten der Parasyndese sprechenden Beobachtungen gewinnt man einen vollständigen Eindruck aus der Übersicht, die sich in der kritischen Zusammenfassung Grégoires (05, 10) darüber findet. Wie entschieden ferner die Hauptvertreter der Theorie von der Parasyndese ihre Überzeugung verfechten, davon legen die Arbeiten von A. und K. E. Schreiner (siehe 08) und namentlich auch die im vorigen Jahre erschienene Schrift von Vejdovsky (12) Zeugnis ab.

Die Theorie der Metasyndese hat demgegenüber keine starken Stützen aufzuweisen. Die Angriffe, welche man gegen die Parallelkonjugation gerichtet hat, können doch nur mittelbar der gegen teiligen Anschauung gutgeschrieben werden, und wie aus dem oben Gesagten hervorgeht, gehört einer der Hauptgegner der Parasyndese, nämlich Meves, nicht etwa zu den Anhängern der anderen Anschauung über die Chromosomenkopulation, sondern dieser Autor hält überhaupt keine der beiden hypothetischen Möglichkeiten für erweisbar. Fick (06) kommt in seinem kritischen Referat vom Jahre 1906 bei der Besprechung dieser Frage zu dem Schluss, „dass einstweilen weder die ‚parallele‘ noch die ‚endweise‘ Konjugation der Chromosomen im Frühstadium der Reifeteilung wirklich bewiesen ist“. Es ist dabei charakteristisch dafür, dass sich der Stand der Diskussion zuungunsten der Theorie von der Metasyndese verschoben hat, wenn Fick zwar mit den Beweisen der Anhänger der Parallelkonjugation, besonders mit den von A. und K. E. Schreiner beigebrachten Beobachtungen, sich kritisch auseinandersetzt, aber auf die Arbeiten der Autoren, welche die Endvereinigung vertraten, nicht näher eingeht. Eine ähnliche Haltung nimmt Häcker (09) in seiner zusammenfassenden Betrachtung über die Chromosomen als angenommene Vererbungsträger vom Jahre 1909 ein. Zwar steht auch er den Argumenten v. Winiwarters und der anderen Autoren dieser Richtung skeptisch gegenüber und glaubt nicht, „dass die

vorgebrachten Argumente zwingender Natur sind“ (S. 86). Aber für die Metasyndese, eine Anschauung, die Häcker, wie bereits erwähnt, selber mitbegründet hat, vermag auch er keine positiven Argumente beizubringen und kommt bei der Diskussion der diesbezüglichen Kontroverse zu einem vorsichtigen, einen Kompromiss darstellenden Schluss, wenn er sagt: „Alles in allem möchte ich auf Grund eigener, bei verschiedenen Objekten gesammelter Erfahrungen glauben, dass allerdings bei manchen Formen schon in den präsynaptischen und synaptischen Stadien die Paarung je zweier Chromosomen perfekt geworden sein kann . . ., dass aber bei der Mehrzahl der Objekte die in der frühen Synapsis zutage tretende Doppelfadenstruktur auf einer frühzeitigen Längsspaltung beruht, und dass also im ganzen die Faltungstheorie im Recht ist, wenn sie die Bildung des dickfädigen synaptischen Knäuels auf eine vorübergehende Verschmelzung der Spalthälften und die Entstehung der diakinetischen „gemini“ auf eine Metasyndese und eine darauffolgende Umbiegung und Durchbrechung der bivalenten Elemente zurückführt“. Wenn ein Autor wie Häcker, den wir doch zu den Hauptvertretern der Theorie der Metasyndese rechnen müssen, im Gegensatz zu der entschiedenen Haltung von Grégoire, Schreiners, Vejdovsky dem zitierten Satze gemäss einen mehr zurückhaltenden, vorsichtigen Standpunkt zu gewinnen trachtet, so muss er dazu wohl seine guten Gründe haben. Und es sind wirklich keine Tatsachen ins Treffen zu führen, die als entscheidende Beweise für die Existenz einer Metasyndese gelten könnten. Zumeist finden wir, dass die Autoren mit dem von Rückert (94) bei seiner Untersuchung über die Eireifung der Copepoden eingeführten Argument des Tetradenquerspalts für die Metasyndese eintreten, wobei allerdings diese Beobachtung nunmehr auch für die Schleifen des Bukettstadiums vielfach erhoben wurde (Popoff [07], Buchner [09]; hier S. 349 diesbezügliche Literaturangaben). Man muss aber bedenken, dass eine Querlichtung im reduzierten Element nur einen Schluss auf seine Entstehung zulässt, keineswegs ist damit eine Beobachtungstatsache über die Entstehung der Tetraden selbst beigebracht. Somit ist dieses Argument jenen Beobachtungen nicht gleichzustellen, welche z. B. Schreiners für die Parallelkonjugation bei *Tomopteris* erhoben haben; denn diese sollen, wenigstens nach der Meinung der genannten Autoren, den Vor-

gang der Parallelkonjugation direkt demonstrieren. Dazu kommt noch, dass dieses Hauptargument der Metasyndese an Bedeutung viel verloren hat, nachdem Lerat (05) bei Copepoden gerade auch hinsichtlich der Entstehung der Doppelchromosomen eine andere Anschauung gewonnen hat als Rückert und nachdem Grégoire und Deton (06) der Auffassung von Korschelt über die Tetradengenese bei *Ophryotrocha puerilis* widersprochen haben. So sagt denn auch Vejdovsky (12, S. 145): „Die Querkerben stellen offenbar ein charakteristisches Merkmal der Chromosomen von Cyclopiden und vielleicht auch einigen Ascariden vor, deren Bedeutung aber noch nicht klar genug ist. Am wenigsten vermag ich aber der Anschauung Häckers beizupflichten, dass man in der Querkerbe ein Merkmal der stattgefundenen ‚Metasyndese‘ suchen soll“. Vejdovsky scheint allerdings in der Ablehnung der Bedeutung des Tetradenquerspaltes zu weit zu gehen, da doch diese Erscheinung gar nicht bloss bei Cyclopiden und einigen Ascariden vorkommt, sondern mit Einschluss der an pachytänen Schleifen beobachteten Querkerben viel weiter verbreitet sein dürfte; aber im allgemeinen wird man Vejdovsky keine schwerwiegenden Einwände machen können, wenn er sagt: „Die meisten neueren Forscher, welche die „parallele“ Konjugation ablehnen, gelten als warme Anhänger der „end to end“ Konjugation, obwohl es meist schwierig ist, aus deren Darstellungen diese Annahme als wahrscheinlich anzuerkennen“.

Aus all dem Angeführten ergibt sich, dass gegenwärtig dem Fernerstehenden die Theorie von der Parallelkonjugation als die herrschende erscheinen muss.

Man sollte aber doch bedenken, dass die Vertreter dieser Anschauung sich auf die Deutung von frühen, schwer analysierbaren Gonozytenstadien stützen und dass ein Beweis für die Richtigkeit dieser Deutung bislang noch nicht erbracht ist, dass andererseits Einwände gegen die Theorie von Seite erfahrener Forscher gemacht worden sind. Dazu kommt ferner, dass der von Grégoire (09) und Schreiner (08) für ihre Anschauung in Anspruch genommene Fall des *Zoogonus mirus* der Theorie der Parasyndese durchaus nicht angepasst werden kann.

Unter diesen Umständen können wir es nicht für gerechtfertigt halten, dass Vejdovsky die Diskussion über die Frage nach der Entstehung der sogenannten heterotypischen Chromo-

somen endgültig geschlossen wissen möchte, wenn er sagt (l. c. S. 145): „Obwohl wir schon den strikten Beweis durch Tatsachen geführt haben, dass es keine mit der Parallelkopulation vergleichbare endweise Chromosomenpaarung gibt, so müssen wir doch in Anbetracht der Anschauungen Häckers die Frage näher erörtern, um die angenommene „Metasyndese“ in der hier besprochenen Fassung definitiv aus der Zytologie zu eliminieren“ (vom Ref. gesperrt). Wir werden demgegenüber zeigen, dass die von uns über die frühe Oogenese von *Zoogonus mirus* ermittelten Tatsachen einer Eliminierung der Metasyndese aus der Zytologie im Wege stehen und wir werden, weil uns dies durch den gegenwärtigen Stand der Frage geboten erscheint, im Anschluss daran auf verschiedene Einwände aufmerksam machen, die gegen die Annahme einer Parasyndese auch heute noch mit Recht erhoben werden können.

Stevens (05) behauptet an *Sagitta* bei der Eireifung parallele und bei der Samenreifung endweise Konjugation festgestellt zu haben. Nun meinte Heider (zitiert nach Fick [06]), solche Beobachtungen beweisen, „dass dieser Verschiedenheit in der Art der Aneinanderfügung der homologen Chromosomen keine prinzipielle Bedeutung zukommt“. Dieselbe Anschauung spricht eigentlich auch aus dem oben zitierten Satz Häckers. In neuester Zeit endlich hat v. Kemnitz (13) eben dieselbe vermittelnde Stellung eingenommen, weil er auf Grund von Beobachtungen bei seinem Objekt (*Brachycoelium salamandrae*) es für ein häufiges Vorkommen halten möchte, dass nach vorausgegangener Endvereinigung das bivalente Element im Bukettstadium bis zur Parallellagerung seiner beiden Komponenten abgebogen wird und dass also Metasyndese und Parasyndese bei einem Objekt nacheinander eintreten können. Es ist ja richtig, dass zunächst gerade im Hinblick auf die Hauptfrage der Gonozytogenese, nämlich die Frage nach der Bedeutung der Reifungsteilungen für eine etwaige Reduktion der Chromosomen im Sinne Weismanns, der Streit über die Entstehung der Chromosomen der ersten Reifeteilung unwichtig erscheinen könnte, weil nämlich der Endeffekt in dieser Hinsicht derselbe sein kann, ganz gleich, ob man eine Metasyndese mit nachherigem Umbiegen der Komponenten, also einen sekundären Parallelismus der Paarlinge (Faltungstheorie) oder eine von Anfang an bestehende parallele

Aneinanderlagerung der kopulierten Chromosomen annimmt, vorausgesetzt, dass man mit Grégoire die Entstehung von Mixochromosomen ablehnt.

Aber gegenüber der Möglichkeit eines solchen Kompromisses zwischen Metasyndese und Parasyndese muss man entschieden darauf hinweisen, dass zwischen den beiden hypothetischen Arten der Chromosomenkopulation von einem allgemein zytologischen Standpunkt aus wohl ein prinzipieller Unterschied besteht. Wir werden versuchen, diesen prinzipiellen Unterschied im Verlaufe unserer Erörterung hervorzuheben.

*) Die Frage nach der Entstehung der reduzierten Elemente bei *Zoogonus mirus*.

Wir haben die Entstehung der am Schlusse der ersten Periode der Oogenese zum Bukett geordneten reduzierten Schleifen eingehend dargestellt und es ist nunmehr die Frage zu beantworten, wie sich diese Beobachtungen zu dem oben skizzierten gegenwärtigen Stand der Frage nach der Entstehung der numerischen Chromosomenreduktion überhaupt verhalten.

Ihren unmittelbaren Ausgang nehmen die sechs Schleifen des Buketts von dem kontinuierlichen Knäuel, dieser aber wird durch das Zusammentreten von zwölf Chromatinteilen gebildet.

Es ist klar, dass wir bei dieser Sachlage von einer Parasyndese nicht sprechen können. Stadien, die für sich allein betrachtet, eine Parallelkonjugation im Sinne des „Tomopteristypus“ nahelegen würden, haben wir ebenso wie A. und K. E. Schreiner (08) und Grégoire (09) auch unsererseits bei *Zoogonus* zu verzeichnen (Fig. 21 und 22). Aber, wenn wirklich hier zwei Fäden zur Bildung eines Chromosoms zusammentreten, so sind es univalente Chromosomen, die aus der Fadenpaarung hervorgehen und diese Parallelfädigkeit hat somit nichts mit der Chromosomenkoppelung zu tun, sondern ist jenen frühesten doppelfädigen Prophasenstadien gleichzustellen, wie sie z. B. im Zyklus der somatischen Mitosen von Lundegårdh (13) und von v. Schustow (13) bei *Allium cepa* einwandfrei festgestellt worden sind.

Wenn wir somit eine parasyndetische Entstehung der pachytänen Schleifen ganz entschieden von der Hand weisen können, so bleibt die weitere Frage, ob wir andererseits von einer Metasyndese im eigentlichen Sinne sprechen dürfen, oder ob wir uns

bei dem Standpunkt von Meves bescheiden und auch in unserem Falle einfach die Tatsache registrieren müssen, dass eben aus dem kontinuierlichen Knäuel nicht die diploide, sondern die haploide Anzahl von Elementen hervorgeht. Wir können ja eine Metasyndese nur dann behaupten, wenn wir Anhaltspunkte dafür haben, dass wirklich je zwei ursprüngliche Chromosomen mit ihren Enden zusammengetreten sind oder dass bei der Segmentierung des Knäuels immer je zwei seiner Komponenten miteinander in Verbindung geblieben sind. Letztere Bedingung müsste in unserem Fall erfüllt sein, damit wir hier eine Metasyndese annehmen dürften. Die direkte Beobachtung lässt uns bei dem Versuch, diese Frage zu entscheiden, im Stich. Aber es wird nicht unverständlich sein, dass man gerade angesichts der vorliegenden Stadien die gestellte Frage nicht ohne weiteres offen lässt oder sich gar dem resignierten Standpunkt von Meves anschliesst. Sehen wir doch hier, dass zwölf Elemente in den Knäuel eintreten und deren sechs aus ihm hervorgehen. Sollten wir da annehmen müssen, dass die Segmentierung des Fadens an ganz beliebigen Punkten ohne Beziehung zu den Vereinigungsstellen der ursprünglichen Chromosomen vor sich gehe? Diese Möglichkeit dünkt uns gegenüber der anderen, dass je zwei Elemente miteinander verbunden bleiben, als die unwahrscheinlichere und zwar aus folgenden Gründen.

Wir müssen uns erstens vor Augen halten, dass die Zerteilung des Fadens gerade in sechs Segmente ein gesetzmässiger Vorgang ist, dessen regelmässiger Ablauf an bestimmte, in jedem Fall gleichartige Bedingungen geknüpft sein muss. Die eigentliche Ursache dieses gesetzmässigen Vorganges kennen wir nicht. Aber wir kennen eine für jeden Knäuel vorhandene Bedingung für seine Zerteilung in sechs Abschnitte und diese ist in seiner Zusammensetzung aus zwölf Elementen gegeben. Damit haben wir zwei Tatsachen, die Zusammensetzung und Zerteilung des Knäuels, deren ursächliche Verknüpfung sehr nahe liegt, weil dadurch allein die Gesetzmässigkeit der Segmentierung auf eine einfache Weise verständlich wird, während sie uns ganz rätselhaft erscheinen müsste, wenn wir den ursächlichen Zusammenhang zwischen den beiden bekannten Faktoren leugnen würden. Nehmen wir aber diese zunächst liegende Auffassung an, so deuten wir den Vorgang im Sinne der Metasyndese. Das Gesagte

lässt sich auch in der Überlegung ausdrücken, dass die Aufgabe, eine aus zwölf Segmenten bestehende Kette regelmässig und mit absoluter Sicherheit in sechs Teile zu zerlegen, auf keine einfachere Weise zu lösen ist als durch die Zerteilung der Kette zwischen je zwei Gliedern derselben.

Zweitens ist es doch wahrscheinlich, dass die Nahtstellen zwischen den einzelnen Chromosomen auch beim sekundären Durchbrechen des Knäuels Prädilektionsstellen für die Entstehung von Querkerben sein werden; dies wäre insbesondere dann der Fall, wenn der Knäuel nicht lange bestehen bleiben sollte, wofür ja der Umstand spricht, dass man ihn nur sehr selten zu Gesicht bekommt.

Dann aber ist drittens zu bedenken, dass vielleicht nicht einmal in unserem Falle immer ein kontinuierlicher Knäuel gebildet wird. Wir haben einen solchen konstatiert und mussten daher bei der Seriierung unserer Stadien den kontinuierlichen Knäuel zwischen den primär und den sekundär gekerbten einsetzen. Aber nichts ist wahrscheinlicher, als dass auch bei unserem Objekt öfters und bei anderen Objekten vielleicht in der Regel ein abgekürztes Verfahren eingeschlagen wird, dass der segmentierte Faden, in dem sämtliche Chromosomen gegeneinander abgesetzt sind, wieder zerfällt, bevor die einzelnen Komponenten miteinander verlötet sind. Und in diesem Falle könnte doch nur von einer Endvereinigung je zweier Chromosomen die Rede sein. Denn man wird doch nicht zu der gezwungenen Annahme greifen wollen, dass einmal ein einziges Chromosom für sich und dafür drei andere miteinander in beliebiger Kombination aus der Segmentierung hervorgehen und dass trotzdem immer sechs Segmente entstehen können.

Dazu kommt dann noch viertens der Anhaltspunkt, den uns jene Querlichtungen an die Hand geben, die wir des öfteren innerhalb der reduzierten Schleifen demonstrieren konnten und die wir dem von Buchner (09) und anderen an den pachytänen Schleifen beobachteten Querspalt gleichsetzen können. Es ist dabei ganz gleichgültig, ob wir in diesen Querlichtungen bestehen gebliebene primäre Kerben vor uns haben, oder ob sie der Ausdruck dafür sind, dass der kontinuierliche Knäuel hie und da gewissermassen den Versuch macht, sich in seine sämtlichen Komponenten zu gliedern. Für unsere gegenwärtige Betrachtung ist folgendes von

Wichtigkeit. Wenn der Knäuel an beliebigen Stellen durchbricht, so müssen solche Querkerben unter Umständen auch zu mehreren innerhalb eines Segmentes auftreten können, und sie werden an beliebigen Stellen des Segmentes, ein oder das andere Mal auch ganz nahe seinem Ende, gelegen sein. Im anderen Fall aber, wenn der Knäuel zwischen je zweien seiner Komponenten durchbricht, dann darf, unter der Voraussetzung, dass die Querkerben die Bedeutung haben, die wir ihnen zuerkennen, ein Segment niemals mehr als eine solche Dehiszenz aufweisen, und sie muss wenigstens annähernd in der Mitte seines Verlaufes gefunden werden. Diese Bedingungen sind nun in allen Fällen von solchen Querkerben innerhalb der reduzierten Elemente, die wir demonstriert haben, erfüllt (siehe Fig. 34, 35 und 36).

Schliesslich können wir noch daran erinnern, dass die gewichtigen Gründe, die für eine Individualität der Chromosomen überhaupt sprechen (Boveri [04]), auch hier zugunsten einer Endvereinigung je zweier Individuen und gegen die Möglichkeit einer die Knäuelkomponenten nicht berücksichtigenden Zerfallung des Fadens angeführt werden können.

Zum Schlusse dieser zugunsten der Metasyndese sprechenden Auseinandersetzung wollen wir noch einer Methode gedenken, die uns an und für sich sehr geeignet erscheinen würde, die soeben behandelte Frage in einer viel exakteren Weise, als dies durch Indizienbeweise von der angeführten Art möglich ist, aufzuklären. Die geringe Anzahl von Fällen, die der zu schildernden Methode unterzogen werden konnten, und die im Objekt liegenden Schwierigkeiten, welche die Genauigkeit des Verfahrens beeinträchtigen, gestatteten uns freilich nicht, den erhofften Erfolg dabei zu erzielen; wenn wir trotzdem das eingeschlagene Verfahren zu schildern nicht unterlassen, so geschieht dies in der Überzeugung, dass es in anderen günstiger gelagerten Fällen von Vorteil sein müsste.

Wenn man imstande ist, vergleichende Messungen der Längen der Knäuelsegmente und der Bukettschleifen anzustellen, und dabei zu dem Resultat kommt, dass konstante Relationen zwischen diesen Grössen bei den einzelnen Kernen vorhanden sind, so wird man es als erwiesen erachten dürfen, dass die Gesetzmässigkeit der Segmentierung des Knäuels nicht allein darin besteht, dass überhaupt immer sechs Segmente entstehen, sondern

auch darin, dass diese Segmente durch eine an bestimmte gesetzmässig festgelegte Punkte des Knäuels gebundene Teilung entstehen. Und schon dadurch wäre die angenommene Metasyndese so gut wie sichergestellt. Denn wenn der Beweis erbracht ist, dass die Segmentierung nicht an beliebigen Punkten des Knäuels einsetzen kann, sondern nur an ganz genau determinierten, so könnten doch schwerlich andere Stellen des Knäuels in Betracht kommen, als die Nahtstellen zwischen den Chromosomen. Wenn wir aber ferner erkennen könnten, dass auch die Segmente des primär gekerbten Knäuels zu Paaren hintereinander geordnet, doppelwertige Stücke von eben denselben Längenrelationen ergeben, wie die reduzierten Schleifen, dann wäre für unseren Fall der strikte Beweis einer Metasyndese erbracht.

Ein Blick auf die Fig. 39—44 lehrt, dass jedes Bukett eine besonders kurze Schlinge enthält. Desgleichen macht es die blosse Anschauung schon wahrscheinlich, dass auch ein die anderen Schleifen an Länge übertreffendes Element bei der Mehrzahl der Bukettformationen vorhanden ist.

Mit einer solchen Feststellung ist aber kaum eine irgendwie verwertbare Erkenntnis gewonnen; denn wenn die Bukettschleifen durch Segmentierung des kontinuierlichen Knäuels entstehen und diese Segmentierung ganz regellos erfolgen würde, dann wäre es ja von vornherein wahrscheinlich, dass unter den sechs Teilstücken des Fadens eines das längste und ein anderes das kürzeste sein könnte.

Wenn wir den Versuch wagen wollen, zu prüfen, ob bestimmte Relationen zwischen den einzelnen Knäuelsegmenten vorhanden sind, müssen wir anders zu Werke gehen. Wir müssen in sämtlichen uns vorliegenden Fällen vom sekundär gekerbten Knäuel bis zum vollendeten Bukett die Längenmaße der einzelnen Segmente ermitteln und die gefundenen Werte miteinander vergleichen. Dazu haben wir keine andere Methode als die Messung der mit dem Prisma aufgezeichneten Chromatinschleifen, wie sie in unseren Figuren vorliegen, in einzelnen jeweils einer Geraden nahekommenden Teilstücken und die Abtragung dieser Teilmaße auf einer Geraden. Dieser Methode haften natürlich ganz bedenkliche Fehler an, die uns vor die Frage stellen, ob durch ein so ungenaues Verfahren Maße gewonnen werden, die zu weiteren Schlüssen verwertet werden dürfen.

Wir haben aber unser Vorgehen noch von einer weiteren Voraussetzung abhängig zu machen, und die Prüfung in dieser Richtung kann zugleich eine Anschauung davon geben, wie weit unsere Methode der Messung zur Ermittlung von Annäherungswerten brauchbar ist. Der Vergleich der gefundenen Längenmaße untereinander und ihre Beziehung zum Knäuel in der oben angegebenen Richtung hat nur dann einen Sinn, wenn wir annehmen dürfen, dass die Gesamtlänge der Schleifen eines Buketts gleich sei der Gesamtlänge des Knäuels, von dem das Bukett stammt. Denn wenn dies nicht der Fall wäre und sich die Segmente nach ihrem Freiwerden hinsichtlich der Länge in wechselnder Weise veränderten, dann müssten wir unser Vorhaben aufgeben. Eine vergleichende Messung in diesem Punkt lässt sich natürlich nur dann durchführen, wenn wir Knäuel und Bukettstadium aus demselben Ovarium besitzen. Denn bei der Grössendifferenz zwischen den Kernen aus verschiedenen Ovarien lässt sich nur in diesem Fall je ein Bukett und ein Knäuel gleich wie zwei Stadien ein und desselben Kernes betrachten. An diese Bedingung geknüpft, ist die Messung natürlich nur sehr selten ausführbar, und so verfügen wir nur über zwei derartige Beispiele; bei einem derselben stehen der Knäuellänge allerdings zwei unter sich gleiche Gesamtlängen von Bukettschleifen des betreffenden Ovars gegenüber, welcher Umstand das Ergebnis des Vergleiches wohl noch vertrauenswürdiger macht. Im ersten Fall (Textfig. 21) ist der Knäuel der Fig. 32 und das Bukett der Fig. 42, im zweiten (Textfig. 22) der Knäuel und die Buketts der Fig. 30, 38 und 39 miteinander in Vergleich gesetzt worden. Man sieht, dass die Geraden, auf welche die entsprechenden Grössen abgetragen wurden, von beinahe gleicher Länge sind. Ob man dem Umstand, dass in beiden Fällen die Knäuellänge die Gesamtlänge der Bukettschleifen um ein Geringes übertrifft, irgend eine Bedeutung zuerkennen darf, ist bei unserer groben Methode und an der Hand von nur zwei derartigen Fällen nicht zu entscheiden. Wenn dieses Verhalten aber die Regel bilden sollte, so wäre es das Wahrscheinlichste, dass während der Segmentierung, vielleicht als ein dieselbe unterstützendes mechanisches Moment, jedes Teilstück um einen geringen Bruchteil seiner Länge sich verkürzte. Da aber hierbei die Relationen zwischen den einzelnen Segmenten sich nicht zu verändern brauchen, so können wir trotz dieser Möglichkeit

a b



Fig. 21.

a = Länge des Knäuels der Fig. 32;
b = Gesamtlänge der Schleifen des
Buketts der Fig. 42.

a b c



Fig. 22.

a = Länge des Knäuels der Fig. 30;
b und c = Gesamtlängen der Bukett-
schleifen der Fig. 38 und 39.

die Voraussetzung, dass Knäuellänge und Bukettschleifenlänge einander entsprechen, im Hinblick auf unsere Untersuchung für gegeben halten.

Für den ersten Teil unserer Untersuchung, der die Frage betrifft, ob die Segmentierung an bestimmte Punkte des Knäuels gebunden ist, lassen sich nun gewisse rechnerische Voraussetzungen machen. Der Knäuel, d. h. eine Strecke von jeweils bestimmter Länge, wird in sechs Teilstücke zerlegt. Die Frage, wie viele Teilungsmodi hierbei eingeschlagen werden könnten, ist natürlich zunächst dahin zu beantworten, dass deren unendlich viele denkbar sind. Zieht man aber nicht die absoluten Werte der Teilungsprodukte, sondern nur deren gegenseitiges Verhältnis im allgemeinen in Betracht, so kann man feststellen, dass unter diesem Gesichtspunkt nur elf Varianten bei dem Teilungsprozess auftreten können, die sich folgendermassen darstellen:

1. Sämtliche Teilstrecken sind einander gleich.
2. Sämtliche Teilstrecken sind untereinander ungleich.
3. Von den Teilstrecken sind zwei unter sich gleich und vier sind von diesen und unter sich verschieden.
4. Von den Teilstrecken sind je zwei unter sich gleich und zwei von diesen und unter sich verschieden.
5. Von den Teilstrecken sind je drei unter sich gleich.
6. Von den Teilstrecken sind drei unter sich gleich und drei von diesen und unter sich verschieden.
7. Von den Teilstrecken sind drei und zwei unter sich gleich und eine von beiden Gruppen verschieden.
8. Von den Teilstrecken sind je zwei unter sich gleich.
9. Von den Teilstrecken sind vier unter sich gleich und zwei unter sich gleich.
10. Von den Teilstrecken sind vier unter sich gleich und zwei von diesen und unter sich verschieden.
11. Von den Teilstrecken sind fünf unter sich gleich und eine davon verschieden.

Wir haben also zuzusehen, ob bei der Segmentierung unseres Knäuels regelmässig einer von diesen elf Teilungsmodi eingeschlagen wird. Ist dies der Fall, dann würden wir die gestellte Frage, ob die Segmentierung an bestimmte Punkte des Fadens gebunden ist, bejahen können. Wenn dem aber so wäre, so hätten wir weiterhin zu bedenken, dass jede dieser Teilungsformen in

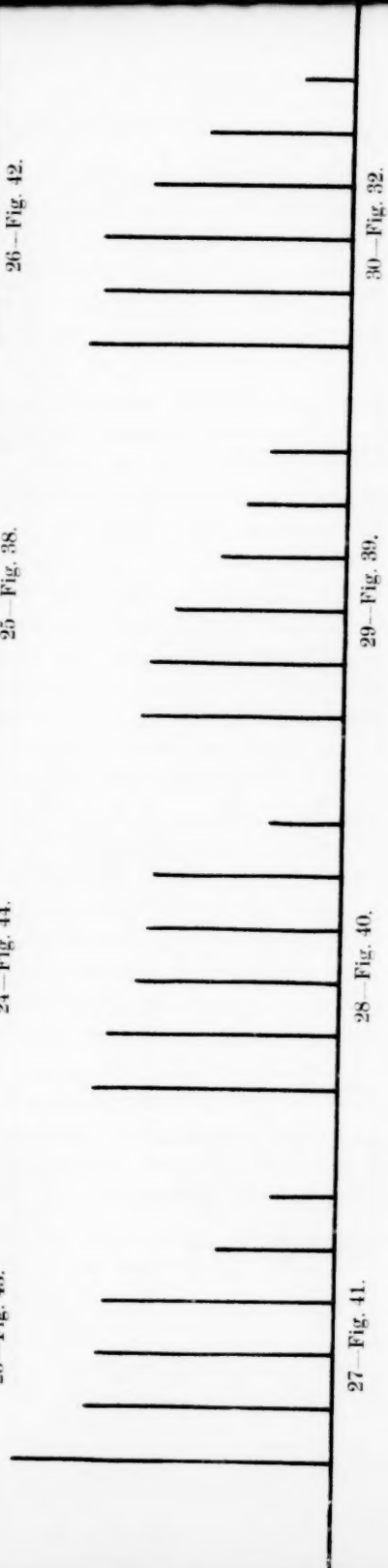
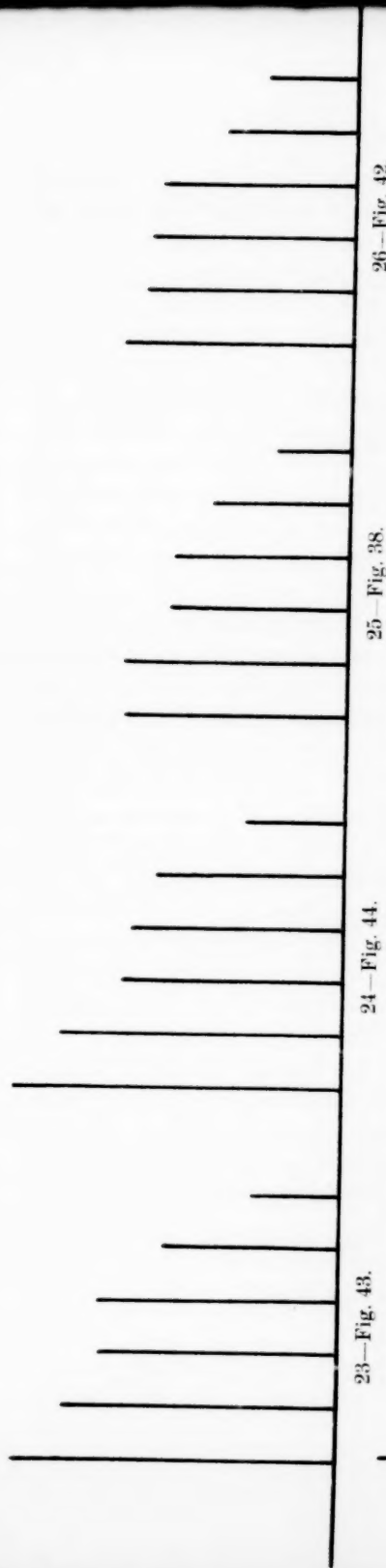
unzähligen Varianten verwirklicht sein kann, wovon man sich sofort überzeugen kann, wenn man irgend einen der elf Fälle auf bestimmte Grössen anwendet. Wenn also in unserem Fall bei der Teilung des Knäuels eine Regelmässigkeit im Längenverhältnis der einzelnen Segmente zutage treten sollte, dann muss sie zunächst in dem regelmässigen Auftreten eines der elf Teilungsmodi ausgedrückt sein, kann aber weiterhin noch bestimmter festgelegt sein in irgend einer Variante der allgemeinen Form.

Nach diesen Vorbemerkungen wollen wir an die Vergleichung der gewonnenen Messungsergebnisse herantreten. Sie sind in den Textfig. 23—34 niedergelegt und es ist bei jeder Maßtabelle angegeben, welcher Oozytenkern ihr jeweils zugrunde liegt.

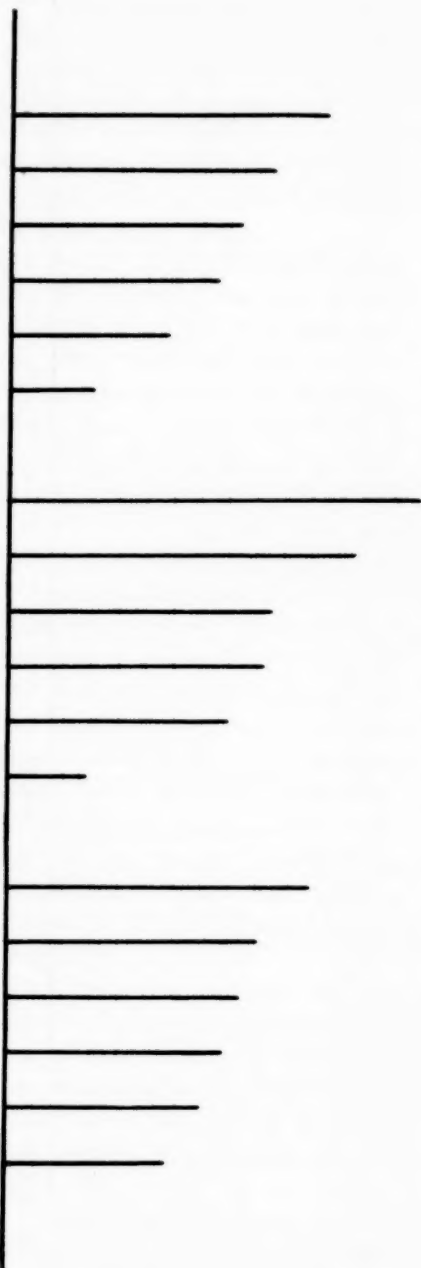
Bei der schon betonten Unzulänglichkeit unserer Methode, die uns zwingt, die aus der Horizontalebene vielfach abweichenden Fäden in ihrer Projektion auf die Horizontale zu messen und die krummen Linien in eine Anzahl von kleinen einer Geraden gleichzusetzenden Strecken mit dem Zirkel abzuteilen, lässt sich nur folgendes aussagen: Wahrscheinlich würde sich bei einer viel grösseren Anzahl von Messungen herausstellen, dass immer zwei oder immer drei von den Knäuselsegmenten und Bukettschleifen untereinander gleich sind und dass von den übrigen ein Element durch besondere Kürze auffällt, so dass es sich zu einem ihm an Länge zunächststehenden anderen etwa wie 1:2 verhält. Sind aber die Relationen soweit festgelegt, dann müssen im einzelnen konkreten Falle alle Segmente untereinander in einem bestimmten Längenverhältnis stehen. Dieser Vermutung widersprechen nur die Knäuselsegmente des Oozytenkernes der Fig. 37 (Textfig. 33).

Soweit können wir also die erste Frage beantworten, welche auf die Längenrelation der Segmente vom sekundär gekerbten Knäuel bis zum Bukett gerichtet war.

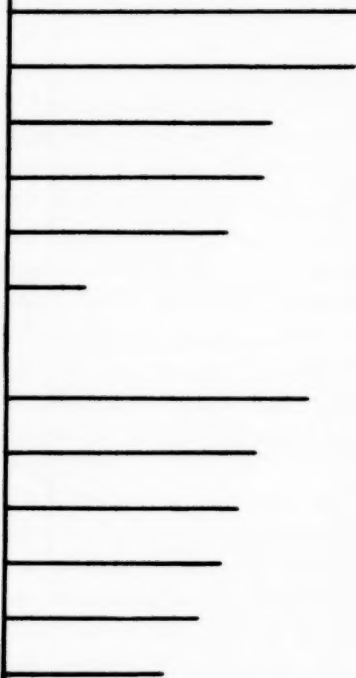
Noch schwieriger ist natürlich zu ermitteln, ob auch die zur Vereinigung bestimmten zwölf Elemente des Oozytenkernes vor der Knäuelbildung doppelwertige Elemente geben von eben denselben relativen Längenmaßen, wie sie die Knäuselsegmente und Bukettschleifen darzubieten scheinen. Hier haben wir ja nur in ganz seltenen Fällen Gelegenheit, die mutmassliche Zusammengehörigkeit einzelner Chromatinstücke mit einiger Sicherheit zu bestimmen. Um so bemerkenswerter aber ist es, dass in den beiden in den Fig. 35 und 36 dargestellten Fällen, bei denen wir glaubten, unser



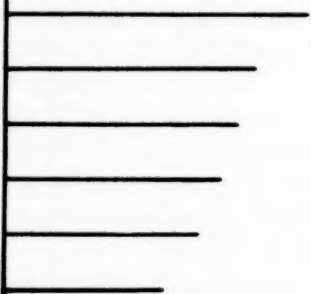
31—Fig. 33.



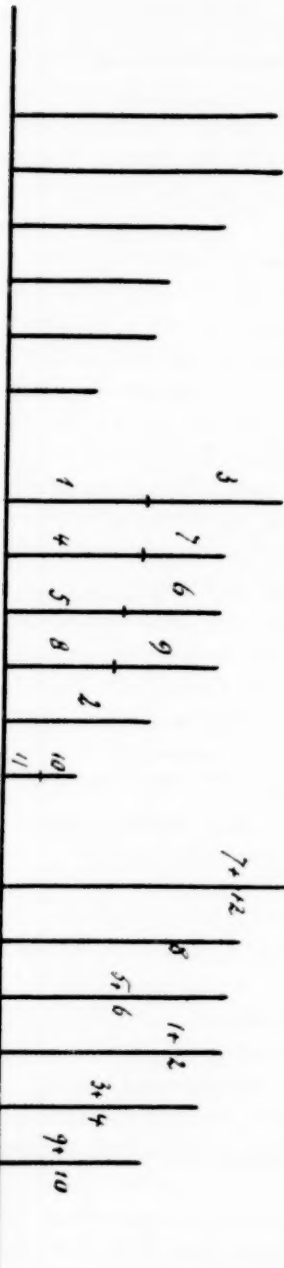
32—Fig. 35.



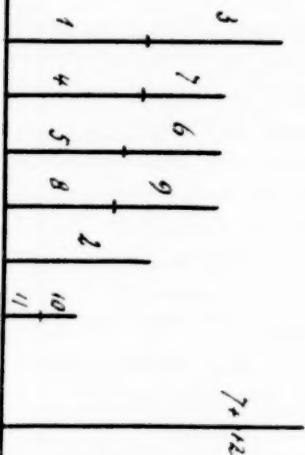
33—Fig. 37.



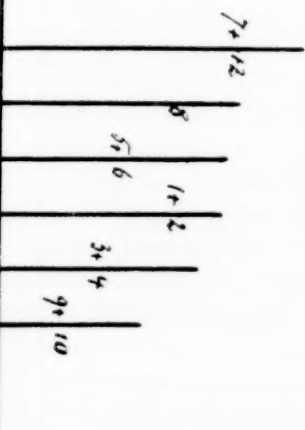
34—Fig. 34.



35—Fig. 29.



36—Fig. 28.



Verfahren anwenden zu dürfen, ein Ergebnis zutage trat, welches der Erwartung sehr nahe kommt. Die Tabellen sind mit den zu den Kernen gezeichneten schematischen Textfiguren auf S. 25 zu vergleichen, wobei die Zahlen erkennen lassen, welche von den Einzelementen zusammengestellt worden sind.¹⁾ Das oben für die Bukettschleifen Gesagte lässt sich tatsächlich auch auf diese Grössen anwenden.

Und so ergibt sich also im ganzen, dass bei einer der Brauchbarkeit des Verfahrens entsprechenden Anwendungsmöglichkeit ein Resultat würde zustande kommen können, welches den Nachweis der Metasynthese auf eine ganz sichere Grundlage stellen müsste.

Was Schreiners (08) für die Anschauung, dass auch bei *Zoogonus* die Chromosomenreduktion nach dem „Tomopteristypus“ erfolge, an tatsächlichen Belegen beibringen, kann nicht in eine ernsthafte Diskussion gezogen werden. Denn diese Autoren stellen nicht etwa die Kernvorgänge, die zur reduzierten Chromosomenzahl führen, in einer Entwicklungsreihe der Spermatozyten oder Oozyten dar, sondern begnügen sich damit, in den Hoden und Ovarien von *Zoogonus* gleichfalls einige Stadien aufzufinden von der Art, wie sie von ihnen bei anderen Objekten und insbesondere bei *Tomopteris* — hier allerdings im Rahmen einer vollständig beschriebenen Spermatogenese — festgestellt und als Beweise für die Parallelkonjugation angesprochen worden sind. Da nun Schreiners unter Zugrundelegung ihrer an anderen Objekten gewonnenen Erfahrung über den Ablauf der Geschlechtszellenentwicklung hier bei *Zoogonus* nur nach jenen Entwicklungsstadien suchten, die dem „Tomopteristypus“ angehören und da sie glaubten, ihre Untersuchung für vollständig halten zu dürfen, als jene Stadien gefunden waren, sind ihnen alle anderen Stadien entgangen, die wir in dem Streben, möglichst alle Stadien der frühen Oogenese kennen zu lernen, ausserdem noch finden konnten. Zu diesen von Schreiners nicht bemerkten Entwicklungsstufen der Oozyten gehören die in den Fig. 23—46 wiedergegebenen.²⁾ Nun

¹⁾ In dem Kern der Fig. 29, Textfig. 9 konnten nur elf Chromatinteile ermittelt werden. Wir vermuten daher, dass eines von den relativ langen Elementen (2) bereits bivalent ist.

²⁾ Wenn wir zu diesen von A. und K. E. Schreiner nicht gewürdigten Stadien auch das Bukettstadium rechnen, so müssen wir hierzu allerdings bemerken, dass der in Fig. 8 ihrer Arbeit abgebildete Spermatozytenkern („Stadium der dicken Schleifen“) wohl einem solchen entsprechen dürfte.

sind diese Stadien, wie man sieht, eben jene, welche uns eine Verfolgung des Vorganges der numerischen Chromosomenreduktion gestatten. Wir hoffen, A. und K. E. Schreiner möchten durch unsere Darstellung in ihrem Glauben an die Allgemeingültigkeit des „Tomopteris-Typus“ soweit erschüttert werden, dass sie wenigstens für Zoogonus eine andere Möglichkeit der Reduktion einräumen. Dessen sind wir jedenfalls sicher, dass sie jetzt ungleich mehr Mühe hätten, die Eientwicklung des Zoogonus ihrem Typus anzugleichen, nachdem wir eine ganze Reihe von Stadien der Oogenese, die der „Tomopteris-Typus“ nicht vorsieht, aufgedeckt haben. Wenn allerdings die Deutung aufrecht erhalten werden könnte, die Schreiners den von ihnen abgebildeten Kernstrukturen der Oo- und Spermatozyten von Zoogonus gegeben haben, dass nämlich die ohne Zweifel beobachtete und richtig wiedergegebene Parallelität einzelner Chromatinfäden wirklich als Ausdruck für eine Längskonjugation ganzer Chromosomen zu erachten ist, dann wäre freilich das prinzipiell ausschlaggebende Moment des „Tomopteris-Typus“, nämlich die Existenz der Parallelkonjugation, auch in unserem Falle gegeben, unbeschadet des Umstandes, dass der kontinuierliche Knäuel und die ihm unmittelbar vorausgehenden und nachfolgenden Stadien der Chromosomen-Umlagerung in das Bild der Oozytenentwicklung neu einzufügen wären. Um zu diesem der Theorie der Parallelkonjugation günstigen und unseren Befunden widersprechenden Resultat zu gelangen, müsste man aber vor allem den Nachweis führen können, dass die Darstellung, welche wir von der Aufeinanderfolge der Oozytenkernzustände im Ablauf der Oogenese gegeben haben, nicht richtig ist oder wenigstens nicht die allein richtige zu sein braucht, dass vielmehr noch eine andere Serrierung dieser Entwicklungsstadien möglich wäre. Denn solange die durch den Augenschein

Demnach hatten sie zwar unter den durchmusterten Spermatozyten jenes Stadium vor Augen, aber in den Ovarien ist es ihnen sicher entgangen; denn gerade die Kenntnis und die gründliche Beschäftigung mit diesem Bukettstadium hätte die genannten Autoren vor dem Irrtum, in den sie bezüglich der Zahlenverhältnisse der Chromosomen verfallen sind, bewahren müssen, da, wie wir gezeigt haben, eben in diesem Stadium die reduzierte Anzahl mit absoluter Sicherheit zahlenmässig festzustellen ist. So berechtigen also schon die falschen Angaben Schreiners über die Chromosomenzahl zu der Konstatierung, dass sie kein wohlentwickeltes Bukettstadium genau betrachtet haben.

zwanglos sich ergebende Auffassung zu Recht besteht, dass die Normalzahl der Chromosomen sich zum kontinuierlichen Knäuel aufreht und dieser in Segmente von reduzierter Anzahl zerfällt, solange ist überhaupt keine Möglichkeit für die Annahme einer Parallelkonjugation vorhanden. Erst dann also, wenn die von uns gegebene Begründung der Serierung der Oozytenstadien (siehe S. 48) durch irgend einen zureichenden Gegengrund ins Wanken gebracht worden wäre, käme eine Diskussion über die Frage in Betracht, ob die von Schreiners in den Fig. 5, 6 und 7 ihrer Zoogonusarbeit abgebildeten Chromatinfaden-Paarlinge wirklich als Beweismittel für die Existenz einer Parallelkonjugation gebraucht werden dürfen. Dennoch wollen wir uns mit dieser in unserem Falle sekundären Frage in Kürze beschäftigen, weil es uns von allgemeiner Bedeutung erscheint, die Unterlassung methodologischer Art darzulegen, welche Schreiners bei der Verwertung der fraglichen Kernbilder für ihre theoretischen Anschauungen sich unseres Erachtens haben zu schulden kommen lassen. Die betreffenden Bilder der Schreinerschen Arbeit (Tab. I, Fig. 5, 6 und 7), welche den Vorgang der Chromosomenpaarung in den Oo- und Spermatozyten demonstrieren sollen, sind nur optische Schnitte durch die untersuchten Kerne und geben schon aus diesem Grunde keinen Aufschluss über die entscheidende Frage, ob die Entstehung der paarigen Chromatinfäden in Wahrheit mit einer Reduktion der Chromosomenanzahl einhergeht oder nicht. Hier kann nur die Erforschung des ganzen Kerninhaltes und die Zählung der Kernfäden Aufschluss geben und es kann in einem solchen Falle dem Autor die Wiedergabe seiner Beobachtungen in ihrem ganzen Umfange wohl nicht erlassen werden.¹⁾ Freilich

¹⁾ Wenn wir diesen Einwand gegen die Schreinersche Arbeit erheben, so sind wir uns dabei wohl bewusst, dass man uns entgegenhalten könnte, wir beanstanden zwar die Abbildungen der Autoren mit Recht, dürfen aber keinen Schluss von der Art der Wiedergabe auf die Art der Erhebung der Befunde machen. Diese Zurechtweisung müssten wir in diesem Falle um so eher gewärtigen, als A. und K. E. Schreiner selbst an anderer Stelle (OSb, S. 13) sich „über die Beurteilung und den Wert von Abbildungen nach zytologischen Präparaten mit starken Vergrößerungen“ geäußert haben und unter Hinweis auf diese prinzipielle Auseinandersetzung wohl verlangen werden, dass man ihr Urteil über die Frage, wie weit man in der zeichnerischen Verdeutlichung seiner durch Beobachtung begründeten Überzeugung gehen dürfe, nicht anzweifle. Es liegt uns ja auch ferne, uns gegen die an der erwähnten Stelle angeführten Möglichkeiten der Wiedergabe mikro-

hätten Schreiners zu dem geforderten Vorgehen die in der Kenntnis der Chromosomen-Normalzahl gelegene Voraussetzung nicht besessen, weil sie sich eben, wie dies an anderer Stelle gezeigt werden konnte, eine ganz irrige Vorstellung von der Normalzahl der Chromosomen gebildet hatten. Aber wir dürfen wohl, nachdem wir durch alle Stadien der Oogenese die zahlenmäßige Feststellung der Chromatinteile mit Erfolg durchgeführt haben, im allgemeinen sagen, dass in einem Falle wie dem unsrigen, wo die niedrige Chromosomenzahl den Versuch, sie jeweils festzustellen, aussichtsreich erscheinen lässt, nur nach genauer Durchforschung des ganzen Kerninhalts und, wenn irgend möglich, nach Vornahme der Zählung der Chromatinelemente eine Beziehung hergestellt werden darf zwischen morphologischen Erscheinungen an den Chromosomen und der Art und Weise ihrer Reduktion. Wir wiederholen, dass wir Oozytenkerne von der Art jener, die den Fig. 5 und 6 von Schreiners zugrunde liegen, gleichfalls gesehen und abgebildet haben (Fig. 21 und 22); aber wir konnten zeigen, dass die hier tatsächlich zu beobachtende Parallelität der Chromatinfäden in keiner Beziehung zur Reduktion steht (S. 21).

Was die Stellungnahme Grégoires (09) in der Frage nach der Herkunft der bivalenten Chromosomen bei *Zoogonus* betrifft, so veranlassen ihn zur Annahme einer Parasynthese die nämlichen Kernbilder, wie sie von Schreiners in ihren Fig. 5, 6 und 7 wiedergegeben worden sind und von denen er in seiner Textfig. F „ein klares Beispiel“ demonstriert. Dieser Spermatozytenkern oder besser dieses Detailbild aus einem solchen ist der einzige

skopischer Befunde im allgemeinen zu wenden, und wir geben zu, dass in gewissen Fällen Detailbilder und Schnittbilder von Kernen Totalbildern derselben vorzuziehen sein werden. Aber wenn Detailbilder und Schnittbilder als Dokumente vorgebracht werden, da, wo nicht etwa bloss Strukturen, wie z. B. ein spiralgiges Chromonema im Chromosom (Vejdovsky [12]) aufgezeigt werden sollen, sondern wo bestimmte Formverhältnisse an allen Elementen des Kernes vorhanden sein müssen und wo ihr Vorhandensein mit einer bestimmbareren Verringerung der Kernelemente gegenüber deren Normalzahl verknüpft sein muss, damit man ihnen die in Rede stehende Bedeutung zuerkennen kann, dann soll wenigstens die textliche Darlegung der Befunde jene Zweifel, die durch die Bilder notwendigerweise erregt werden, zum Schweigen bringen. Da nun die Schreinersche Arbeit auch nach dieser Richtung hin durchaus nicht befriedigt, schien der erhobene Einwand berechtigt.

Beleg, den Grégoire für seine Anschauung vorführt; wir haben dieses Dokument in der untenstehenden Textfig. 37 reproduziert. Allem Anschein nach handelt es sich dabei, wie auch Grégoire selbst angibt, um einen pachytänen Kern, also um ein Spermatocytenstadium, welches dem von uns für die Oozyten demonstrierten Bukettstadium analog ist. Diese Auffassung wird noch gestützt



Fig. 37.



Fig. 38.

durch die Angabe Grégoires, dass die beiden Schenkel der Schleifen meist noch bedeutend weiter auseinander gespreizt erscheinen, als die der abgebildeten Doppelemente. Nun haben wir aus dem Bukettstadium unserer Fig. 42 zwei Elemente herausgezeichnet (Textfig. 38), also ein Detailbild wie Grégoire hergestellt, damit man sieht, wie leicht man solche Dokumente sich verschaffen kann und wie wenig sie beweisen. Besonders günstig ist hierbei noch, dass auch eine der von uns gewählten Schleifen an der vom Nukleolus abgekehrten Seite eine Dehiszenz aufweist, wie wir sie öfters an den bivalenten Elementen gesehen und besprochen haben. Aber diese Dehiszenz ist nicht die Regel, sondern mit wenigen Ausnahmen sind die Schleifen im Bügelteil vollständig geschlossen (siehe Fig. 38—45). Und das ist sehr wichtig; denn wären sie immer offen, so könnte dies ebenso für eine stattgehabte Parallelkonjugation sprechen, wie ihr geschlossener Bügel und eine hie und da vorkommende, als Querlichtung erscheinende Dehiszenz für die Metasyndese in die Wage fällt.

So kann man also der Abbildung von Grégoire keine Beweiskraft zuerkennen; es handelt sich hier wie bei Schreiners um eine ohne jeden Zusammenhang dastehende morphologische Erscheinung, die ja an und für sich für die Theorie der Parasyndese sprechen mag, aber diese Bedeutung verliert, sobald sie dem Zyklus der Chromatin-Umlagerungen, wie wir ihn für die frühe Oogenese aufgedeckt haben, eingeordnet wird.

Wenn Grégoire weiterhin zugunsten seiner Auffassung und in Übereinstimmung mit Schreiners anführt, dass bei

Zoogonus nicht wie bei anderen Objekten aus dem Ruhekern der Gonozyte sofort Doppelfäden, sondern zuerst ein einfachfädiges Gerüst (Leptonema) entsteht, und dann erst ein doppelfädiges Stadium (Zygonema) und dass diese Tatsachen die Annahme von Meves, die Dualität sei lediglich der Ausdruck einer vorzeitigen Längsspaltung der Chromosomen, hinfällig machen, so sei demgegenüber wiederum daran erinnert, dass auf die doppelfädigen Stadien in der Oogenese von Zoogonus Kerne folgen, welche die diploide Anzahl von Chromatinteilen enthalten.

Im Gegensatz zu Schreiners muss Grégoire zugebilligt werden, dass er sich des Mangels an strikten Beweisen für die Parasyndese bei Zoogonus bewusst ist und dass er dieser Erkenntnis auch Ausdruck gibt, wenn er sagt: „Seulement, nous ne prétendons pas que le matériel présent suffise à établir cet interprétation à une façon incontestable.“ „Aussi prions nous le lecteur de ne pas considérer les conclusions que nous avons énoncées plus haut au sujet des cinèses elles-mêmes comme étant solidaire de ce que nous allons dire maintenant sur la prophase synaptique“ (S. 275). Auch gibt Grégoire zu verstehen, dass die Annahme einer Parasyndese bei Zoogonus in der Hauptsache eben ein Analogieschluss sei, gestützt auf die Verhältnisse bei anderen Objekten: „C'est la conclusion qui s'accorde le mieux avec les aspects observés et elle se trouve corroborée, pour nous, par la parfaite ressemblance des images du Zoogonus avec celles qu'on observe d'une façon plus complète dans d'autres objets, pour lesquels, selon nous, la conjugaison zygoténique est bien démontrée“ (S. 276).

Trotzdem finden wir in der zusammenfassenden Darstellung Grégoires vom Jahre 1910 auf S. 342 den Zoogonus ohne jede Einschränkung in der Reihe derjenigen Objekte aufgeführt, bei welchen die Parasyndese beschrieben worden ist. Nunmehr aber ist erwiesen, dass Zoogonus mirus zu Unrecht für die Theorie von der Parallelkonjugation in Anspruch genommen wurde.

γ) Die Einwände gegen die Parasyndese im allgemeinen.

In diesem Abschnitt soll gezeigt werden, dass der Deutung der frühen, sogenannten zygotänen Gonozytenkerne im Sinne einer präsynaptischen Parasyndese folgende, auf bestimmte Tatsachen gestützte Bedenken entgegenstehen.

1. Die Erscheinungen der Parasyndese stehen nachgewiesenermassen ausser Zusammenhang mit der numerischen Chromosomenreduktion.

a) Bei *Zoogonus mirus*, worauf im Anfang des vorigen Abschnittes und bei Besprechung der Schreinerschen Bearbeitung dieser Oogenese (S. 74) bereits nachdrücklich hingewiesen wurde.

b) Bei der Samenreifung von *Pachyiulus varius* Fabre zufolge den Untersuchungen von Oettinger (09), welcher sagt (S. 588): „Der Konjugationstypus von A. und K. E. Schreiner musste bei *Pachyiulus* sehr wohl in Erwägung gezogen werden, da in ganz analoger Weise wie bei den Schreinerschen Objekten der parallele (sich überkreuzende) Verlauf von chromatischen Doppelfäden in den synaptischen Stadien wahrgenommen wurde. Aber trotz dieser äusseren Ähnlichkeit konnte im speziellen Teil nachgewiesen werden, dass damit keineswegs eine wirkliche Kopulation von Doppelfäden angedeutet war; denn die Reduktion der Chromosomen hat nach Fertigstellung der aus den Doppelfäden entstandenen Chromosomen nicht stattgefunden. Der Nachweis konnte durch die Erfüllung der denkbar grössten Anforderung durch einen Befund und eine Beobachtung am lebenden Objekt geführt werden. Es konnte im speziellen Teil gezeigt werden, dass eine Spermatozyte erster Ordnung im lebenden Zustand noch die unreduzierte Normalzahl der Chromosomen wie die Spermatogonien, also eine Zahl von 24 bzw. 25 aufwies. Auch die weiterhin am Präparat gemachten Analysen für die Prophasen der ersten Reifungsteilung führten zu dem unbedingten Schluss, dass bei den aus den Doppelfäden hervorgegangenen Chromosomen vorerst noch keine wirkliche oder auch nur scheinbare Reduktion der Chromosomenzahl eingetreten war. Diese erfolgt, wie gezeigt wurde, erst direkt bei der Einstellung der Chromosomen in die Äquatorialplatte.“

Wie aus dem letzten Satz des zitierten zusammenfassenden Passus der Arbeit Oettingers hervorgeht, vertritt der Autor für *Pachyiulus* denselben Modus der Chromosomenkoppelung wie Korschelt (95) für *Ophryotrocha*. Wenn Grégoire (10, S. 393) der Untersuchung Oettingers gegenüber einen sehr skeptischen Standpunkt einnimmt, so muss man das angesichts der eigentümlichen und merkwürdigen Details (Grégoire), die der Autor

hier beschreibt, nur für gerechtfertigt halten. Aber solange eine von Grégoire als wünschenswert bezeichnete Nachprüfung nicht dargetan hat, dass Oettinger in dem für uns wesentlichen Punkt geirrt hat, kann man seine Befunde nicht ignorieren. Und so wie sie uns vorliegen, stellen sie ein Hindernis dar gegen die Annahme des allgemeinen Vorkommens der Parasyndese.

Bei Vejdovsky (12) finden wir die Arbeit Oettingers nicht erwähnt.

2. Es besteht die Möglichkeit, dass auch an Monosomen die Erscheinungen der Parasyndese auftreten.

v. Baehr (09) sieht in den Spermatozyten von *Aphis saliceti* drei Chromosomen, von welchen zwei bivalent sein müssen, eines aber univalent, weil in den Spermatogonien und somatischen Zellen fünf Elemente gefunden werden. Nun zeigen von diesen drei Chromosomen in der Regel nur die zwei grösseren eine sehr deutlich ausgesprochene Duplizität, während das kleinere dritte — das Monosom nach v. Baehrs Anschauung — „kaum eine Andeutung davon“ besitzt (l. c., S. 291), aber doch, wie wir im Sinne unserer gegenwärtigen Betrachtung hinzusetzen dürfen, auch nicht völlig einheitlich ist, wie es sein müsste, wenn die Duplizität der grösseren Elemente für ihre Entstehung auf dem Weg der Parasyndese beweisend sein sollte. Auch ist ja gar nicht sicher, ob dasjenige Chromosom, welches im einzelnen Fall nur die Andeutung einer Duplizität besitzt, wirklich das unpaare Monosom ist. Wenn man das betreffende Element wegen des Mangels einer ausgesprochenen Duplizität als das Monosom bezeichnet, so kann man das nur in der Voraussetzung tun, dass eben die Doppelfädigkeit der Ausdruck der stattgehabten Parasyndese sei. Diese Voraussetzung ist aber hypothetisch. Dazu kommt dann noch, dass v. Baehr Kerne fand, in denen alles chromatische Material eine deutliche Duplizität aufwies; hier konnte der Autor allerdings nicht sicher unterscheiden, ob wirklich alle drei Chromosomen oder nur Teile der beiden grossen im Schnitt getroffen waren. So kommt v. Baehr selbst nicht zur Entscheidung der Frage, ob längsgespaltene endvereinigte oder parallel konjugierte Chromosomen bei seinem Objekt anzunehmen sind. Unter unserem Gesichtswinkel aber bedeuten die Verhältnisse der Spermatozyten von *Aphis saliceti* ein Bedenken gegen die Parasyndese.

Auch Grégoire (10) erwähnt die Untersuchung v. Baehrs. Er wendet gegen sie ein, dass sie unvollständig sei (S. 397), aber seine diesbezüglichen Ausstellungen berühren den von uns besprochenen Punkt zunächst nicht.

Vejdowsky (12) zitiert die Arbeit v. Baehrs nicht.

Hier sei dann noch hinzugefügt, dass auch Buchner (09) bei *Gryllus* eine entsprechende Beobachtung am accessorischen Körper mitgeteilt hat. Er sagt (S. 382): „Auch ist der interessante Fall, dass der accessorische Körper einen etwas längeren Faden ausschießen kann, der dann auch deutlich längsgespalten wird, ein Gegenbeweis gegen die Konjugation. Wo bleibt hier die Konjugationsmöglichkeit!“ Nun halten wir es ja nicht für angebracht, einer solchen Beobachtung, die sich noch dazu auf ein späteres Stadium der früheren Oogenese, nämlich das Bukett, und nicht auf das kritische, das Zygonema, bezieht, gleich die Bedeutung eines „Gegenbeweises gegen die Konjugationslehre“ zu-zuerkennen, aber man ist berechtigt, auch sie dem extremen Standpunkt, wie ihn z. B. Vejdowsky in der Konjugationsfrage einnimmt, entgegenzuhalten.

3. Die Erscheinungen der Parasyndese trifft man auch im Entwicklungsgang parthenogenetsicher Eier, bei welchen keine Chromosomen-Reduktion stattfindet.

Kühn (08) findet in den jungen Oozyten der parthenogenetischen Generationen der Cladoceren *Daphnia pulex* und *Polyphe-mus pediculus* doppelfädige Chromatinelemente. Kühn bemerkt im Anschluss an diesen Befund selbst (S. 552): „Betrachtet man diese (sc. doppelfädigen Chromatinstrukturen) allein, so erinnern sie ohne Zweifel an die Bilder, welche A. und K. E. Schreiner für *Tomopteris* geben und aus bestimmten Gründen als parallele Konjugation deuten“. Wie aus Kühns Beschreibung und seinen Figuren zu ersehen ist, kann man bei seinen Objekten gerade jenes Moment, das A. und K. E. Schreiner als den Ausdruck des Vorgangs der Konjugation ansprechen, nämlich das Divergieren von streckenweise parallel laufenden Fädchen, auf das deutlichste sehen. Und doch tritt hier gar keine numerische Reduktion der Chromosomen ein, zu welcher Feststellung sich die genannten Objekte wegen ihrer geringen Chromosomenzahlen sehr gut eignen.

Dass diese Arbeit einen Einwand gegen die Parasyndese bedeutet, hat bereits Goldschmidt (08) hervorgehoben.

v. Winiwarter und Sainmont (09, S. 242) nehmen, durch den Hinweis Goldschmidts dazu veranlasst, zu Kühns Arbeit Stellung. Die Autoren formulieren zunächst eine Argumentation Goldschmidts („Voici son argumentation“) folgendermassen: „Les figures qu'on observe dans l'accroissement d'une génération issue de parthénogénèse, concordent avec les images d'individus nés par fécondation; comme il n'y a pas de réduction, c'est-à-dire conjugaison des chromosomes, cette homologie ne devrait pas exister“. Und sie fahren dann fort: „En réalité, elle n'existe pas non plus, c'est Goldschmidt seul qui le prétend. Car l'auteur, Kühn, insiste sur ce qu'il n'a pas constaté de parallélisme des filaments, ni de synapsis“. Was Kühn selbst angibt, haben wir bereits zitiert. Goldschmidt (08) sagt wörtlich: „Zum Schlusse noch eins: Auch bei parthenogenetischen Eiern parthenogenetischer Generationen findet man genau die gleichen Bilder, die sonst als parallele Konjugation homologer Chromosomen gedeutet werden (siehe die Arbeit von Kühn in diesem Heft). Wo bleibt da die Theorie.“

Also sagt Goldschmidt nichts anderes als Kühn selbst. Sie konstatieren beide die Tatsache, dass in den Fällen von *Daphnia pulex* und *Polyphemus pediculus* die Erscheinungen der Parasyndese ohne eine Reduktion zur Beobachtung kommen. Goldschmidt zieht freilich aus dieser Tatsache eine Folgerung, die Kühn ferne lag. Aber dass Goldschmidt etwa im Gegensatz zu Kühn behauptet hätte, die Bilder der aus parthenogenetischen Generationen hervorgegangenen Individuen seien identisch mit denen jener Individuen, die auf dem Wege der Befruchtung entstanden sind, ist nicht richtig. Es ist ja über die aus befruchteten Eiern hervorgehende Generation von *Daphnia pulex* und *Polyphemus pediculus* in bezug auf die Oogenese gar nichts bekannt. So ist also die Argumentation Goldschmidts von v. Winiwarter und Sainmont nicht ganz zutreffend gekennzeichnet.

Was aber den Satz betrifft: „L'auteur, Kühn, insiste sur ce qu'il n'a pas constaté des parallélisme des filaments ni de synapsis“, so vergleiche man dazu die von uns zitierten Worte Kühns.

Auch Grégoire (10) bestreitet die Stichhaltigkeit des von Goldschmidt auf Grund der Arbeit Kühns vorgebrachten Einwandes gegen die Theorie der Parasyndese.

Was Grégoire in dieser Beziehung mit Recht vorbringen kann und auch erwähnt¹⁾, das ist die Tatsache, dass Kühn die Chromosomen lediglich in den Oogonienmitosen und dann erst wieder unmittelbar vor der ersten Reifungsteilung, nicht aber im kritischen Stadium der doppelfädigen Elemente einwandfrei zählen kann. Ebenso liegen ja auch in allen Fällen, in denen eine Parallelkonjugation angenommen wird, die Verhältnisse. Aber Kühn folgert trotzdem ausdrücklich, nachdem er in den Oozyten unmittelbar vor der ersten Reifungsteilung die Normalzahl der Chromosomen festgestellt hat: „Es kann somit in der Zwischenzeit (d. h. von der letzten Oogonienteilung bis zum Moment der Zählbarkeit der Chromosomen) keine Syndese, die zu einer Pseudoreduktion auf eine halbe Zahl führen müsste, stattgefunden haben“. In seiner Zusammenfassung indessen (Anmerkung S. 576) räumt Kühn als „eine blosse Möglichkeit“ ein, es könnten die Doppelfäden vielleicht doch der Ausdruck einer Parasyndese sein, die dann aber bis zu dem Zeitpunkt, da die Chromosomen wieder gezählt werden können, rückgängig gemacht sein müsste. Darin also, in dieser Möglichkeit einer Wiederaufhebung der Reduktion, die sich dann der Beobachtung entziehen würde, liegt das einzige Gegenargument, das man dem Einwand Goldschmidts entgegenzusetzen könnte. Dieses Argument würde dann eben auf derselben Basis stehen, wie die übrigen Beweise für die Parallelkonjugation im Zygonema-Stadium auch, d. h. es würde ebenfalls aus dem Umstand, dass die feinen Doppelfäden nicht gezählt werden können, seine Existenzberechtigung herleiten. Weil man hier, in den Zygonemastadien, nicht entscheiden kann, ob die Doppelfäden in diploider oder in haploider Anzahl vorliegen, darum darf man von einer Reduktion sprechen; dies ist für viele Beweisobjekte der Parallelkonjugation der letzte Grund ihrer Unbestreitbarkeit. Die von Kühn eingeräumte „blosse Möglichkeit“ erscheint übrigens bei der geringen Anzahl von somatischen Chromosomen seiner Objekte (7—10) so gut wie ausgeschlossen; man betrachte nur

¹⁾ S. 381: „Pour élucider complètement, au point de vue actuel, le cas des oeufs parthénogénétiques, il faudra donc y établir avec soin des données numériques des stades pachytènes et strepsitènes.

die Kerne mit den Doppelfäden der Fig. 26 und 27 der Arbeit Kühns, und man wird unmöglich zu dem Schlusse kommen können, dass hier etwa nur fünf Doppel Elemente vorliegen.

Merkwürdigerweise ist die soeben durchgeführte Argumentation gar nicht der Weg, den Grégoire geht, um den Einwand Goldschmidts zu entkräften. Er beschäftigt sich mit dem von uns erörterten Punkt lediglich in dem zitierten Satz. (Siehe die Anmerkung.) Vielmehr bringt Grégoire (S. 390) insbesondere von Strasburger erhobene Befunde vor, welche die pflanzliche Apogamie betreffen. Hiernach werde in manchen Fällen in der Pollenmutterzelle anfänglich die haploide Chromosomenzahl gebildet, und die beiden Schenkel dieser reduzierten Chromosomen werden erst in der Diakinese, also unmittelbar vor der Reifungsteilung, wieder selbständig, während in anderen Fällen von Apogamie durch die ganze Entwicklung der Pollenmutterzelle hindurch die diploide Chromosomenzahl vorhanden sei. In den ersteren Fällen finde man im Verlauf der Gonozytogenese das Synapsis stadium, in den Fällen der zweiten Art komme ein solches nicht zur Beobachtung. Aus diesen von Grégoire herangezogenen Befunden Strasburgers lassen sich zwei Folgerungen machen. Man erkennt erstens, dass eine stattgehabte Reduktion wieder aufgehoben werden kann und zweitens — diese Folgerung erscheint aber angesichts der Synapsisbilder Strasburgers (04) nicht so einwandfrei wie die erste — kann man annehmen, dass die Reduktion der Chromosomen und die Synapsis, d. h. die Zusammendrängung des Kerninhaltes, in diesen Fällen in kausalem Zusammenhang miteinander stehen. Was die erste Folgerung betrifft, die Grégoire übrigens nicht ausdrücklich zieht, die aber wie aus dem oben Gesagten hervorgeht, einzig und allein mit Recht aus der Gegenüberstellung der pflanzlichen Apogamie und der tierischen Parthenogenese abgeleitet werden kann, so haben wir uns mit ihr, veranlasst durch den von Kühn selbst ausgesprochenen Hinweis auf die Möglichkeit einer Wiederaufhebung der Reduktion, bereits auseinandergesetzt und konnten nicht finden, dass man dieser Möglichkeit hier ernstlich Raum zu geben braucht. Die zweite Folgerung aber, nämlich der kausale Zusammenhang zwischen Reduktion und Synapsis, stellt das Hauptargument Grégoires gegen den Einwand Goldschmidts dar. Vorausgesetzt nun, dass durch die Befunde Strasburgers wirklich der von Grégoire

angenommene Zusammenhang zwischen Reduktion und Synapsis erwiesen wäre, so ist damit für unseren Fall nichts gewonnen. Denn es muss gegenüber der Argumentation Grégoires nachdrücklich betont werden, dass der synaptische Kernzustand, in welchen doch von Montgomery mit demselben Recht oder Unrecht die endweise erfolgende Vereinigung der homologen Chromosomen verlegt wurde wie von anderen Autoren die parallele Konjugation, durchaus nicht identisch ist mit dem leptozygotänen Kern. Im speziellen sind noch dazu die Bilder der synaptischen Kerne, welche Strasburger (04) in seiner Arbeit über die Apogamie der Eualchimillen geliefert hat (siehe die Fig. 9 und 10 dieser Arbeit) derart, dass die Skepsis, die man so vielen anderen synaptischen Kernen der Gonozytogenese entgegenbringen muss, hier die besten Angriffspunkte finden könnte, und ausserdem erkennt man auf diesen Bildern keine feineren Details und besonders keine Doppelfädigkeit. So hat also für die von Grégoire herangezogenen Fälle unsere Behauptung, dass die Synapsis mit den leptozygotänen Stadien nicht identifiziert werden dürfe, in ganz besonderem Maße Geltung. Wenn Grégoire also durch die Strasburgerschen Beobachtungen dartun will, dass ein gesetzmässiger Zusammenhang zwischen der Chromosomenreduktion id est der Parasyndese mit den doppelfädigen Stadien bestehe und daraus für den Fall Kühns den Schluss ziehen will, dass also auch hier, weil die doppelfädigen Stadien vorhanden seien, eine Parasyndese angenommen werden müsse, gleichviel ob die hierdurch erzielte Chromosomenreduktion bis zur ersten Reifungsteilung bestehen bleibt oder nicht, so müssen wir diese Argumentation ablehnen, weil die Begriffe Synapsis und doppelfädiges Stadium zusammengelegt worden sind. Es steht hier einzig die Frage zur Diskussion, ob die parallelfädigen Strukturen, die in den Arbeiten der Anhänger der Parallelkonjugation als Beweise für diese Theorie vorgeführt werden, angesichts der parthenogenetischen Eier mit denselben Strukturen, aber ohne numerische Chromosomenreduktion, die ihnen beigelegte Bedeutung beanspruchen dürfen. Es ist festzustellen, dass diese, erstmalig von Goldschmidt aufgeworfene Frage auch heute noch offen steht, trotzdem sich von Winwarter und Sainmont wie auch Grégoire mit ihr in einem für die Theorie der Parallelkonjugation günstigen Sinn beschäftigt haben.

In der zusammenfassenden Arbeit Vejdovskys (1912) wird die Arbeit Kühns nicht erwähnt.

4. Die Stadien, welche die Existenz der Parasynthese erweisen sollen, sind nicht den Geschlechtszellen allein eigentümlich.

Fick sagt (06, S. 65) gelegentlich der Begründung seiner ablehnenden Haltung gegenüber einer „Konjugation vorher selbständiger Chromosomen“ in den Frühstadien der Gonozytogenese: „Übrigens scheinen die Abbildungen von Schreiners gewissen Figuren Grégoires bei der prophasischen Längsspaltung der somatischen Zellen auffallend ähnlich und es erscheint nicht ausgeschlossen, dass vielleicht auch in anderen Fällen ein Entstehen stärkerer Chromatinfäden durch Zusammenfluss dünner Primitivfibrillen direkt aus dem Ruhegerüst vorkommt und ferner dass sich dieser Vorgang bis zur Bildung dicker Balken mehrfach wiederholt.“

Auch nach Häcker (09, S. 86) „lassen sich zahlreiche Befunde, z. B. die für die Kenntnis der heterotypischen Teilung klassischen Bilder bei Flemming und viele Abbildungen bei Farmer und Moore wohl nur mit einigem Zwange im Sinne der Junktionstheorie deuten, weil eben hier schon beim Auftreten der Doppelfäden ein ausgesprochener enger Parallelismus der Einzelfäden vorliegt und so die Analogie mit den längsgespaltenen Chromosomen der somatischen Mitosen ohne weiteres zutage tritt“. (Im Original nicht gesperrt.)

In beiden Äusserungen, sowohl der von Fick wie der von Häcker, wird nicht bloss der Verdacht ausgesprochen, es könnte der Fadenparallelismus der Ausdruck einer frühen Längsspaltung sein, sondern, was uns hier von wesentlicher Bedeutung ist, es wird auf die Analogie zwischen den doppelfädigen Gonozytenkernen mit den Prophasenkernen der somatischen Mitose ganz deutlich aufmerksam gemacht.

Noch weiter als Fick und Häcker geht Meves, wenn er sagt (08, S. 617): „Ich behaupte nun auf Grund eigener Beschäftigung mit dem Gegenstand, dass bei somatischen Zellen von Salamandra ganz ähnliche Bilder von Fadendoppeltätigkeit wie bei den Spermatozyten dieses Tieres vorkommen.“ (Vom Ref. gesperrt.) Er beruft sich auf das Zeugnis Flemmings, der die Längsspaltung schon bei sehr engen Spiremen

und „in noch frühzeitigeren Formen des Knäuels“ beobachtet hat und der auseinandersetzt, dass der Ausdruck Längsspaltung nicht wörtlich zu nehmen ist, sondern sich lediglich auf eine Zweireihen-anordnung der Chromatinsubstanz beziehen soll. Meves leugnet durchaus nicht, „dass die Schwesterfäden in den Spermatozyten anderer Tiere (ausnahmsweise vielleicht auch in denen des Salamanders) völlig voneinander getrennt angelegt werden können, so dass von vornherein wirkliche Fadenpaare vorhanden sind“ und „dass die Schwesterfäden sich stellenweise voneinander entfernen, sich an ihren Enden mehr oder weniger weit spreizen oder sich umeinander herumwickeln können“. Das Wesentliche sei, „dass die sich anlegenden Chromosomen von vornherein doppelt sind. Dieses ist sowohl bei der Mitose von Spermatozyten und Oozyten als auch bei derjenigen von somatischen Zellen der Fall“.¹⁾

Meves muss allerdings zugeben, dass die Vorstadien des Spirems der somatischen Mitose „überhaupt noch nicht mit genügender Genauigkeit“ beschrieben worden sind und aus diesem Grunde standen bisher die Behauptungen von einer Analogie zwischen den feinfädigen Gonozytenkernen und den somatischen Prophasen auf keiner sicheren Basis. Nun aber besitzen wir genaue Untersuchungen der somatischen Mitosen mit besonderer Berücksichtigung der Prophasen und zwar solche, die man mit jenen an den Geschlechtszellen des gleichen Objekts angestellten vergleichen kann. Es sind die Beobachtungen von K. Bonnevie (08, 11) über die Mitosen der Wurzelspitzenzellen und über die Gonozytogenese von *Allium cepa* und die das gleiche und verwandte Objekte betr. Arbeiten von Lundegårdh (13) und von v. Schustow (13). Bonnevie ist zu dem Schluss gekommen, dass die Doppelfadenstrukturen nur gewissen Entwicklungsstadien der Geschlechtszellen eigen seien, in den somatischen Prophasen aber nur einfache Chromatinfäden beobachtet werden könnten. So hat Bonnevie, welche den Standpunkt der Parasyndese überhaupt vertritt, die Doppelfädigkeit der Chromatinstrukturen für einen heterotypischen Charakter gehalten und damit der Theorie von der Parallelkonjugation eine wertvolle Stütze gereicht. Aber die Befunde Bonneviés können in diesem Punkt als widerlegt gelten, seit

¹⁾ Wir kommen auf diese Anschauung von Meves noch einmal zu sprechen (siehe S. 132).

Lundegårdh (10 und 13) und v. Schustow (13) den einwandfreien Nachweis erbracht haben, dass in den frühen Prophasen der somatischen Mitosen, insbesondere in den sogenannten Intermediärkernen der meristematischen Zone der Wurzelspitze von *Allium cepa* (Lundegårdh, v. Schustow) und in entsprechenden Stadien von *Vicia faba* und *Cucurbita pepo* (Lundegårdh) genau dieselben doppelfädigen Chromatinstrukturen vorhanden sind wie in den Gonozytenkernen überhaupt und speziell in denen von *Allium cepa*. Diese völlige Übereinstimmung ergibt sich einwandfrei aus einem Vergleich der in den Textfig. 39 und 40 wiedergegebenen

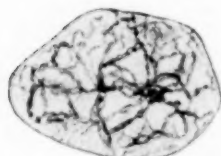


Fig. 39.

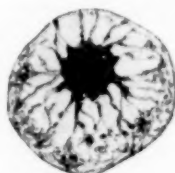


Fig. 40.

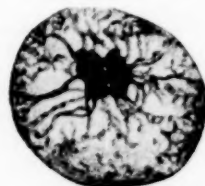


Fig. 41.

Figuren 19 b und 12 v. Schustows und der Fig. 20 (Textfig. 41) Bonnevies (11); die ersteren stellen Prophasenkerne aus der Wurzelspitze von *Allium cepa*, letztere eine Pollenmutterzelle im präsynaptischen Stadium dar. Die nämliche Übereinstimmung zwischen doppelfädigen somatischen Prophasen und ebensolchen Gonozytenkernen hatte schon im Jahre 1910 Digby (10) für *Galtonia candicans* festgestellt. Ausserdem sind doppelfädige frühe Prophasenstadien noch bei einer Reihe anderer Objekte ermittelt worden, allerdings ohne dass die betr. Autoren die Konsequenz für das Problem der numerischen Chromosomen-Reduktion daraus gezogen hätten. Die einschlägigen Arbeiten sind bei v. Schustow (13) aufgeführt.

v. Schustow kommt demgemäss zu dem Schluss: „Die doppelfädige Anordnung der Chromatinsubstanz in der Prophase ist nichts für die heterotypische Prophase Charakteristisches und somit auch kein Beweis und keine Stütze der Theorie der Parallelkonjugation.“

Lundegårdh (13) aber, obwohl er genau dieselben Befunde erhoben hat wie v. Schustow, nimmt in der vorliegenden Frage einen prinzipiell anderen Standpunkt ein. Er ist so sicher überzeugt von der Existenz der Parasynthese, dass für ihn

die aufgefundene Identität der somatischen und der sogenannten heterotypischen Stadien nichts gegen die Parasyndese beweist; er glaubt vielmehr, dass diese Identität lediglich eine morphologische sei. Der gleichen Erscheinungsform liegen seiner Ansicht nach zwei prinzipiell verschiedene Zustände zugrunde und es bestehen „stoffliche Verschiedenheiten der Doppelfäden in den beiden Prophasen“.

Lundegårdh nimmt an, dass dem Chromatin eine Tendenz zum dualistischen Bau innewohne. Diese äussere sich in den somatischen Zellen in der Verteilung der Substanz eines Chromosoms auf zwei Fäden, während andererseits in den generativen Zellen den Chromatin-Elementen die Fähigkeit zukomme, sich paarweise einander gegenüberzustellen. Der Umschlag der gewöhnlich bestehenden Tendenz zur dualistischen Anordnung identischer Elemente in die Fähigkeit zur Paarung qualitativ verschiedener „Caryotinsubstanzen“ werde durch „eine neue Konstellation der inneren Bedingungen bei Beginn der Reifungsteilung veranlasst“.

Man sieht, dass Lundegårdhs Spekulation auf der Prämisse beruht, dass die Parasyndese eine sichergestellte Tatsache sei. Nur wenn man von dem Satz ausgeht: in den generativen Kernen bedeutet die Fadenpaarung ganz sicher eine Konjugation ganzer Chromosomen, kann man wie Lundegårdh folgern, dass eine gleiche Erscheinung in den Kernen der somatischen Zellen ebenso sicher eine andere Bedeutung haben muss. Ein solches Vorgehen ist dem von uns eingeschlagenen ganz entgegengesetzt. Es handelt sich aber bei diesem Gegensatz nicht um Meinungsverschiedenheiten, die man bestehen lassen muss, sondern der von uns gekennzeichnete Stand des Konjugationsproblems verbietet unseres Erachtens jede andere als eine ganz vorurteilsfreie Betrachtung der Tatsachen. Wir müssen erklären, dass die angenommene Parasyndese, weil sie eben noch nicht erwiesen ist und sicher noch keinen Anspruch auf Gesetzmässigkeit und Allgemeingültigkeit machen kann, nicht zum Ausgangspunkte so weittragender Schlussfolgerungen gemacht werden darf, wie sie Lundegårdh gezogen hat. Für den Unbefangenen muss vorerst die auch sonst geltende Anschauungsweise bestimmend sein, wonach für gleiche morphologische Erscheinungen gleiche Bedingungen angenommen werden, solange nicht zwingende Gründe im speziellen Fall zu einer anderen Annahme drängen.

4) **Der prinzipielle Unterschied zwischen Parasyndese und Metasyndese.**

Gerade die Ausführungen Lundegårdhs (13) scheinen uns ein Schlaglicht auf den prinzipiellen Unterschied zu werfen, der unseres Erachtens entgegen der zitierten Äusserung Heiders und entgegen dem Standpunkt v. Kemnitz's (13) zwischen den beiden in Betracht gezogenen Möglichkeiten der Chromosomenkoppelung besteht.

Wenn wir diesen Unterschied nun kurz erörtern, so wollen wir vorher ausdrücklich bemerken, dass diese Auseinandersetzung keineswegs den besprochenen, auf Tatsachen beruhenden Einwänden gegen die Annahme einer Parasyndese etwa als ein weiterer Einwand aprioristischer Natur angereiht werden soll. Solche Erörterungen sind nach keiner Richtung hin beweisend, aber sie zeigen die Konsequenzen an, die aus einer Entscheidung zwischen Parasyndese und Metasyndese gezogen werden müssten.

Sollten entsprechend der Annahme einer Parasyndese die Chromosomen während oder kurz nach ihrer Herausdifferenzierung aus dem Ruhegerüst des Gonocytenkernes sich zu je zweien aneinanderlegen, während sie sonst im Verlauf der vorhergehenden Mitosen selbständig geblieben waren, so müssen hierbei Kräfte im Spiel sein, die allein in den Gonozytenkernen wirksam wären und die ein gegenseitiges Sichaufsuchen der Chromosomen oder ihrer Anlagen herbeiführten. Man müsste eine in der Vorbereitung zur ersten Reifeteilung plötzlich auftretende, wie Lundegårdh (13) sagt, „durch eine neue Konstellation der inneren Bedingungen“ hervorgerufene Affinität zwischen den Chromosomen überhaupt oder gar etwa nach der Hypothese von Montgomery zwischen je zwei homologen väterlichen und mütterlichen Chromosomen annehmen. Welche Vorstellung man sich von der Wirksamkeit solcher im Verlauf der somatischen Mitosen nicht vorhandener, rätselhafter Kräfte macht, geht aus gewissen Darlegungen Vejdovskys (12) hervor. Dieser Autor findet nämlich in der Oogenese von *Diestramena* meistens keine Synapsis und die von ihm konstatierte Fadenpaarung geht also unabhängig von einer solchen vor sich. Mitunter konnte er aber auch synaptische Verklumpungen der *Leptomena*-Kerne beobachten. Vejdovsky glaubt nun, dass das Zustandekommen der Synapsis von der gegenseitigen Lagerung der zur Vereinigung bestimmten Chromatinfäden abhängig sei. Sind diese nahe beisammen, so entsteht seiner

Meinung nach keine Synapsis, denn der Kopulationsvorgang „ist dann durch blosse Annäherung erleichtert“. „Ist aber die Lage je zweier homologer Chromosomen durch andere zwischenliegende unterbrochen und setzen wir bei dem Vorgange eine Attraktionsbewegung der kopulierenden Chromosomen voraus, so ist die Verklumpung leicht erklärlich“ (S. 97). Wie energisch müsste, dieser Vorstellung zufolge, eine derartige „Attraktionsbewegung“ sich geltend machen und wie zielsicher müsste dabei das Kräftespiel funktionieren, damit die durch dazwischenliegende andere Chromosomen getrennten Partner aus dem Synapsisklumpen wirklich ordnungsmässig vereinigt hervorgehen könnten. Mit der Annahme einer Parasyndese verlegt man also in den Gonozytenkern ganz besondere, nur in den Geschlechtszellen auftretende, uns völlig rätselhafte Vorgänge und man entzieht die Geschehnisse in den Gonozytenkernen damit jedem Vergleich mit den Umwandlungen, welche der Kern während der somatischen Mitose erfährt.¹⁾

Die Endverklebung der Chromosomen hingegen ist kein heterotypischer Prozess. Sie stellt ein sehr gewöhnliches Vorkommnis auch in den Prophasen der somatischen Mitosen dar und sie kann auch hier bis zur Bildung kontinuierlicher Spireme fortschreiten. In den Vorkernen von *Ascaris* z. B. (O. Zacharias [12]) ebenso wie in den Pronuclei des Mäuseeies (Sobotta [95]) sind kontinuierliche Spireme ganz sicher beobachtet worden. Auch in späten Prophasenstadien während lange dauernder Diakinesen

¹⁾ Es ist wiederholt behauptet worden, dass in Prophasen somatischer Mitosen je zwei gleichgrosse Chromosomen paarweise beieinander lägen. Diese Beobachtung wollten ja auch Schreiners in den Furchungszellen und Somazellen des *Zoogonus* gemacht haben; hier aber hat sie sich als irrig erwiesen (S. 12). Abgesehen davon, dass das häufigere oder gar gesetzmässige Vorkommen einer Chromosomenpaarung durchaus nicht sichergestellt ist, wäre sie doch mit einer paarweisen Aneinanderlagerung der aus dem Ruhegerüst eben entstandenen Chromosomen, wie sie die Vorstellung von der präsynaptischen Parasyndese zur Voraussetzung hat, nicht vergleichbar und man könnte, wenn eine Chromosomenpaarung in den somatischen Prophasen hier und da wirklich vorkommen sollte, nicht sagen, dass der Vorgang der Parasyndese sein Seitenstück in der somatischen Prophase habe. Man müsste im Gegenteil gerade dann erst recht besondere den Gonozytenkernen allein eigentümliche Kräfte annehmen, weil es hier zu einer wirklichen Vereinigung der Chromosomenpaarlinge käme, in den somatischen Prophasen dagegen die beieinander liegenden Chromosomen, trotzdem ihrer Vereinigung kein mechanisches Hindernis im Wege stünde, immer selbständig bleiben.

macht sich die nämliche Neigung der Chromosomen zur Endverklebung unter Umständen bemerkbar; solche Beobachtungen haben z. B. Strasburger und sein Schüler Miyake (zitiert nach Häcker [09]) bei der Embryosack- und Pollenbildung von *Galtonia* und *Tradescantia* gemacht. Gerade das Vorkommen von Endverklebungen während der Diakinese spricht auch für die Möglichkeit des von Korschelt für *Ophryotrocha* behaupteten Typus der Reduktion. Besonders erwähnenswert erscheint dann in diesem Zusammenhang die Entwicklung der parthenogenetischen Eier von *Diplodiscus temporatus*, welche Cary (09) beschrieben hat. Hier wird in der Prophase der ersten Reifungsteilung ein ungemein klarer kontinuierlicher Knäuel gebildet, der dann in die Elemente der Richtungsspindel zerfällt (siehe die Fig. 32 dieser Arbeit). Eine numerische Reduktion der Chromosomen findet hierbei nicht statt. Die klaren Abbildungen Carys zeigen ferner, dass in den Prophasen der somatischen Mitosen des gleichen Organismus immer nur segmentierte Knäuel vorkommen. Dieser Fall legt doch den Gedanken nahe, dass es lediglich die lange Dauer einzelner Vorstadien der Reifungsteilung ist, welche die den Chromosomen eigentümliche Neigung zur Endverklebung zur Wirkung kommen lässt, so dass ein einheitlicher Chromatinfaden zustande kommt.

Wenn wir sehen, dass im parthenogenetischen *Diplodiscus* aus dem kontinuierlichen Knäuel die diploide Chromosomenzahl hervorgeht, so können wir daraus weiterhin folgern, dass die Bildung des Spirems und die Endverklebung überhaupt keineswegs die Reduktion der Chromosomenzahl zur Folge haben muss. Mit der Feststellung, dass bei *Zoogonus mirus* die Segmentierung des Knäuels zur reduzierten Zahl der Chromatinschleifen führt, sind wir also der Ursache der numerischen Reduktion noch nicht nahe gekommen. Die Metasyndese d. h. die Endverklebung der Chromosomen stellt nur das Mittel dar, durch welches die Bildung von $\frac{n}{2}$ Chromosomen herbeigeführt wird.

Und so kommen wir zu folgendem, den prinzipiellen Gegensatz zwischen Parasyndese und Metasyndese präzisierendem Schluss: Die Ursache der numerischen Zahlenreduktion ist unbekannt. Die Mittel aber, welche die Reduktion zustande bringen, wären im Fall der Parasyndese ohne Analogie im sonstigen Geschehen bei der Mitose, im Fall der Metasyndese hingegen wäre die weit

verbreitete Neigung der Chromosomen zur Endverklebung in den Dienst des Reduktionsvorganges gestellt.

2. Versuch einer Erklärung der während der frühen Oogenese beobachteten Chromatinumlagerungen.

Unsere Beschreibung der frühen Oogenese von *Zoogonus mirus* liess erkennen, auf welche Weise hier die Bildung der Doppelelemente zuwege gebracht wird.

Aber wir haben damit noch keine Einsicht in die Ursachen dieser Vorgänge gewonnen. Und doch ist es allein die Frage nach den zellphysiologischen Gründen für die eigentümlichen Chromatinumlagerungen in der frühen Gonozytogenese, wodurch wir zu einem Verständnis derselben gelangen können. Den Kenner unserer Literatur wird es nicht befremden, dass wir diese anscheinend selbstverständliche Erkenntnis so sehr betonen. Denn wir wissen, dass die Genese der Geschlechtszellen zumeist nur im Hinblick auf deren Bedeutung als Träger der Erbsubstanzen betrachtet wurde und dass daher das Augenmerk der Untersucher in erster Linie auf die Frage gerichtet war, ob und auf welche Weise die Vorbereitung und der Vollzug der Reduktion und Verteilung der Chromosomen *id est* der Erbmasse vonstatten geht. Dabei werden aber die vorgefundenen morphologischen Zustände lediglich zu einem theoretisch geforderten Endzweck in Beziehung gebracht, ohne dass den Gründen für dieselben nachgegangen würde, welche sich doch ungeachtet des etwa in bezug auf die Vererbung erreichten Zweckes für sich allein sollten ausfindig machen lassen. Wenn gleich die Eizelle sicher nicht, wie es schon behauptet worden ist, die Zelle *kat' exochen* ist, so ist sie doch ganz sicher eine Zelle und unterliegt daher den das Zellenleben im allgemeinen regulierenden Faktoren. Die Besonderheiten, welche an den Geschlechtszellen auftreten, so vor allem die numerische Reduktion der Chromosomen, müssen auf Modifikationen jener Faktoren und insbesondere derjenigen, welche die Zellteilung beherrschen, zurückzuführen sein. Nur dann, wenn man künftig solche Zusammenhänge zu erforschen sucht und damit einer kausalen Betrachtungsweise mehr Raum geben wird als bisher, was zunächst zu neuen Fragestellungen in der allgemeinen Zytologie führen dürfte, wird man damit rechnen können, ein Verständnis für die Vorgänge der frühen Gonozytogenese zu gewinnen und Erklärungen an

Stelle der bisher auf die verschiedenste Weise versuchten Interpretationen zu setzen.

Wir können beim gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse von der Zelle nur den Versuch machen, die beschriebenen oogenetischen Kernveränderungen einer kausalen Betrachtungsweise zu unterziehen.

Wenn wir sehen, dass aus dem Kerngerüst der jungen Oozyte die Chromosomen in der Normalzahl herausgebildet werden, wobei einzelne dieser Chromosomen bereits eine Längsspaltung zeigen, so dürfen wir diese ganz typische Veränderung des Kernes wohl auch hier für den ersten Schritt zur beginnenden Teilung halten. Die darauffolgende Phase der Mitose müsste in der Auflösung der Kernmembran und dem Erscheinen der Polstrahlung bestehen. Davon ist aber nichts wahrzunehmen, sondern die Kernmembran bleibt erhalten und der Zellenleib scheint sich an den Teilungsvorbereitungen, die sich im Kern abspielen, durchaus nicht zu beteiligen. So ist denn die Annahme gewiss gerechtfertigt — und wir folgen hier dem Weg, den Richard Hertwig (03) und einige seiner Schüler für die Auffassung der Oogenese vorzeichnet haben — dass die am Kern einsetzende Teilung in ihrem Beginn unterdrückt wird. Ob die Hemmung, die gegenüber dem offenbar vorhandenen Teilungsfaktor das Übergewicht behält, etwa nur im Protoplasma gelegen ist, vielleicht in dem Sinne, dass dessen kleinste Teilchen durch lebhaften Stoffwechsel in einer für dessen Bewältigung notwendigen Anordnung festgehalten sind, so dass sie nicht in die zur Teilung erforderliche Lage gelangen können, oder ob der Zustand des Kernes selbst oder endlich das Verhältnis zwischen Kern und Plasma — die Kernplasmarelation Hertwigs — für den Stillstand der Mitose verantwortlich zu machen sind, darüber dürften zurzeit nicht einmal Vermutungen gestattet sein.

Nun bleiben in den folgenden Stadien der Oogenese die Chromosomen erhalten, nicht anders, wie auch beim Fortschreiten der Mitose das Chromatin, wenn es eine die Kernteilung erheischende Massenzunahme erfahren hat, in der Form der Kernschleifen in Erscheinung bleibt, so lange, bis wiederum der Zustand eingetreten ist, der seine Verteilung auf dem Kerngerüst gestattet. Da aber hier die ordnenden Kräfte fehlen, die sonst im Verlauf der Mitose jedes Chromosom auf gesonderter Bahn

in die Äquatorialplatte führen, sind die Chromosomen innerhalb des Keimbläschens der auch unter anderen Umständen bemerkbaren Neigung zur Endvereinigung überlassen. Die ungehinderte Wirksamkeit dieses Umstandes führt aber zum kontinuierlichen Knäuel.

Die Segmentierung, welche der Knäuel nach einem Bestand von unbestimmter Zeitdauer erleidet, scheint der Ausdruck für den Beginn einer erneuten Teilung zu sein.¹⁾ Würde es sich hier nur um den ersten Schritt zur beginnenden Kernruhe handeln, so wäre durchaus nicht einzusehen, warum nicht einfach eine Verteilung des Chromatins auf dem Kerngerüst erfolgen sollte. Der Umstand, dass wiederum Chromosomen in Erscheinung treten, lässt sich wohl nur unter der Annahme einer beginnenden Mitose verstehen. Diese nach dem ersten erfolglosen Teilungsschritt nunmehr mit der Segmentierung des Knäuels einsetzende Mitose muss aber unter ungewöhnlichen Bedingungen stehen; denn es werden jetzt nur mehr halb so viel Chromosomen gebildet als bei jeder vorausgegangenen Kernteilung.

Der Frage nach der Ursache für die Entstehung der halben Chromosomenzahl können wir vielleicht näher kommen, wenn wir die experimentellen Untersuchungen von Nemeč (10) über Kernteilungsfiguren in chloralisierten Wurzelspitzen zum Vergleich heranziehen.

Wurden die Wurzelspitzen von *Lilium candidum*, *Pisum* etc. für eine gewisse Zeit in Chloralhydratlösung gelegt, so sistierten in ihnen die karyokinetischen Prozesse. Nach Wiederaufhebung der Narkose durch Herausnahme der Wurzelspitzen aus der Chloralhydratlösung trat manchmal in Zellen der meristematischen Zone eine rückläufige Bewegung an den unterbrochenen Mitosen ein, so dass die beiden bereits gegen die Pole des noch ungeteilten Zellkörpers vorgerückten Tochterchromosomengruppen wieder zu einem einheitlichen besonders grossen Kern sich vereinigten. Die also erzeugten syndiploiden Kerne enthielten natürlich eine doppelte Chromosomenzahl gegenüber den diploiden. Was aber die Chromatinmenge anlangt, auf die Nemeč kein Gewicht legt, so war sie im Moment der Verschmelzung der beiden Tochterkerne die dem Kern zukommende. Während dieser aber nach Auflösung

¹⁾ Auch das gelegentlich beobachtete Wiederauftreten von Längslichtungen an den Kernschleifen spricht für diese Annahme.

der Chromosomen im Ruhezustand verharnte, dürfte sie, wie stets zwischen zwei Teilungen der in der meristematischen Zone gelegenen Zellen, auf das Doppelte angewachsen sein (Gesetz des proportionalen Kernwachstums von Boveri, 04), ohne dass sie vorher halbiert worden wäre. So werden die syndiploiden Kerne nicht nur die doppelte Chromosomenzahl, sondern auch die doppelte Chromatinmenge besitzen. Schicken sich solche Kerne aber zur Teilung an, so entstehen manchmal, d. h. in den selteneren Fällen, aus dem Spirem statt der zu erwartenden und gewöhnlich auch vorhandenen doppelten Zahl von Chromosomen nur die normale eines diploiden Kernes. Es tritt also, wie Nemeec beobachtete, infolge unvollständiger Segmentierung des Spirems, oder, wie wir im Hinblick auf die oogenetischen Vorgänge sagen können, durch Metasyndese je zweier Einzelchromosomen eine Zahlenreduktion der Chromosomen ein. Eben solche „Reduktionsteilungen“ wie Nemeec an pflanzlichen Zellen, beobachtete Godlewsky jun. (08) an Zellen von Echinidenkeimen, in denen er durch CO_2 -haltiges Wasser die Mitosen zum Stillstand gebracht und ebenfalls manchmal eine nachträgliche Verschmelzung neugebildeter Tochterkerne erzielt hatte.

Nun ist ja die nächstliegende Vermutung angesichts dieser Tatsachen diejenige, welche auch Nemeec ausgesprochen hat, dass nämlich der Zelle bzw. dem Kern die Fähigkeit zukomme, die Chromosomenzahl zu regulieren (l. c., S. 29). Dieser Satz ist aber unvereinbar mit den Tatsachen, welche Boveri zu seinem Gesetz der Zahlenkonstanz der Chromosomen geführt haben. Es sei nur daran erinnert, dass in Embryonen von *Ascaris megaloc. unival.*, die aus Eiern mit abnorm verlaufenen Reduktionsteilungen stammten, dauernd die vermehrte Chromosomenzahl in den Mitosen beobachtet werden konnte. Es kann also die Ursache der erwähnten experimentell erzeugten Reduktionsteilungen nicht darin gelegen sein, dass etwa die verdoppelte Chromosomenzahl wieder notwendigerweise auf die normale zurückgeführt werden müsste. Dagegen spricht schon die Überlegung, dass nur hie und da einmal ein syndiploider Kern Nemeecs eine Reduktionsteilung zeigt. Verursachte nämlich die doppelte Chromosomenzahl die Reduktion, so müsste diese bei jeder erstmaligen Teilung eines syndiploiden Kernes eintreten, da doch jeder die doppelte Chromosomenzahl enthält.

Wenn wir nun nach Ablehnung des Erklärungsversuches, welchen Nemeč für seine Beobachtungen gibt, nach einer anderen denkbaren Ursache für die Reduktionsteilungen in Zellen chloralisierten Wurzelspitzen uns umsehen, so scheint manches dafür zu sprechen, dass die angenommene, abnorm erhöhte Chromatinmenge derselben als ein nächstes ursächliches Moment betrachtet werden darf. Mit dieser Annahme liesse sich auch ohne weiteres vereinbaren, dass nicht an allen syndiploiden Kernen die Teilung mit der reduzierten Chromosomenzahl eintritt. Denn abgesehen davon, dass wir überhaupt nicht wissen, ob die Chromatinanreicherung während der Kernruhe immer mit gesetzmässiger Regelmässigkeit vor sich geht, können wir uns sehr wohl denken, dass die Zellen chloralisierten Wurzelspitzen in den feinsten Stoffwechselvorgängen, deren intakter Ablauf für die proportionale Chromatinvermehrung doch wohl vorausgesetzt werden muss, gestört sein könnten. Darüber aber, warum die doppelte Chromatinmenge zur Bildung der halben Chromosomenzahl führt, lässt sich natürlich nichts sagen, weil wir eben hier an der vorläufigen Grenze der Interpretationsmöglichkeit angekommen sind.

Wenn wir nach dieser Deutung der Nemečschen Versuche zu unserem Fall zurückkehren, so können wir den Oozytenkern beim zweiten, in der Segmentierung des Knäuels sich manifestierenden Teilungsschritt mit den syndiploiden Kernen der chloralisierten Wurzelspitze vergleichen. Das Vergleichsmoment ist in der abnorm gesteigerten Chromatinmenge gegeben, die wir den syndiploiden Kernen glaubten zusprechen zu dürfen. Denn auch die Oozytenkerne können nach dem ersten erfolglosen Teilungsschritt, welcher zu einer Halbierung der Chromatinmenge hätte führen müssen, ihren Chromatinbestand vermehrt haben, ja dies ist um so wahrscheinlicher, als hier Kerne gegeben sind, welche unter besonders günstigen Stoffwechselbedingungen stehen. Hier wie dort haben wir also eine Kernteilung, von der angenommen werden kann, dass sie mit einer abnorm gesteigerten Chromatinmenge zu operieren hat. Wenn wir für die syndiploiden Kerne der Wurzelspitzen die Vermutung aufgestellt haben, dass bei ihnen die vermehrte Chromatinmenge zur Verringerung der Chromosomenzahl führt, so könnte bei den Oozytenkernen dasselbe Moment zu der prinzipiell gleichen Erscheinung führen. Während aber die endweise Verknüpfung je zweier Chromosomen bei den syndiploiden Kernen

der Wurzelspitzen die Normalzahl der Chromosomen hervorbringt, weil diese Kerne die doppelte Anzahl derselben enthalten haben, muss beim Oozytenkern mit der einfachen Chromosomenzahl durch die gleichen Umstände die Reduktion der Chromosomen auf die Hälfte der Normalzahl erreicht werden.

Auch der zweite während der Oogenese von *Zoogonus mirus* einsetzende Teilungsschritt kommt nicht zum Abschluss, sondern wird wie der erste bald nach der völligen Herausbildung der Chromosomen zum Stillstand gebracht. Wahrscheinlich sind hier aber andere Faktoren für die Störung der Mitose verantwortlich zu machen als das erste Mal. Es scheinen nämlich nach der Segmentierung des Knäuels die Momente wirksam zu werden, welche die Auflösung des Chromatins, d. h. den Ruhezustand des Kernes, herbeiführen. Was am Schluss der ersten Mitose hätte geschehen müssen, aber infolge ihrer Unterbrechung unterblieben ist, nämlich die Auflösung der Chromosomen, das geschieht jetzt, nachdem sich der Kern aufs neue zur Teilung angeschickt hat. Es macht den Eindruck, als ob hier eine zeitliche Inkongruenz eingetreten wäre zwischen zwei Prozessen, die unbedingt parallel laufen müssen, wenn die Zellteilung richtig abgewickelt werden soll.

An dem Gesagten ändert es nichts, wenn wir sehen, dass die Chromosomen vor ihrer Auflösung zum Bukett angeordnet werden. Denn eine solche Lagerung der Chromatinschleifen mit den freien Enden gegen einen Kernpol ist durchaus nicht „heterotypisch“, sondern wir sehen sie auch sonst manchmal von den neugebildeten Prophasenchromosomen oder den vor der Auflösung stehenden Telophasenchromosomen eingenommen. Zum Zeugnis dessen sei auf die bei Boveri (04, S. 5) nach C. Rabl abgebildeten Kerne von Epidermiszellen der Larven von *Salamandra maculosa* hingewiesen.

II. Periode der Oozytenentwicklung von der Auflösung des Buketts bis zur Prophase der I. Reifeteilung.

a) Befunde.

Der Übergang von der ersten Periode der Oozytogenese zur Hauptwachstumsperiode, als welche wir die zweite zu bezeichnen haben, wird durch die Stadien der Bukettauflösung vermittelt (Fig. 46 und 47). Wie wir gesehen haben, geht der Auflockerung und dem Verblässen der reduzierten Schleifen bei unserem Objekt

keine Desorientierung des Buketts voraus, wie das v. Kemnitz (13) für *Brachycoelium salamandrae* angibt und wie es nach Goldschmidt (08) bei *Dichrocoelium lanceolatum* der Fall ist. Die Bukettschleifen verharren bei *Zoogonus* in ihrer polaren Orientierung, bis sie so weit aufgelockert und abgeblasst sind, dass man sie nicht mehr verfolgen kann und nur einzelne noch übrig gebliebene Schollen als eben noch erkennbare Reste der Schleifen im Kernraum zerstreut gefunden werden. Diesen Vorgang der Auflockerung und des Verblassens der Bukettschleifen illustrieren die Fig. 46 und 47. In einer ganz besonders klaren Weise vollzieht sich nach der Darstellung von Jörgensen (10) das Verblassen des Buketts ohne jede Desorientierung seiner Schleifen bei *Proteus*.

Auch die Reste der Bukettschleifen bleiben nicht bestehen, sondern die chromatischen Partikel, welche sie zusammensetzen, scheinen noch eine weitere Verteilung auf das Kerngerüst zu erfahren.

So kommt wohl das Aussehen des Oozytenkernes zustande, den wir an den Anfang der Hauptwachstumsperiode zu stellen haben. Hier ist zu bemerken, dass die Frage nach der Aufeinanderfolge der vorgefundenen Stadien in diesem Abschnitt der Oogenese keine Schwierigkeiten macht, weil wir, innerhalb des einzelnen Ovariums wenigstens, in der Grösse des Kernes einen sicheren Anhaltspunkt für die Seriierung haben und die Endstadien durch ihren Übertritt in den Uterusschlauch als solche gekennzeichnet sind.

Der Oozytenkern nun, welcher in die Hauptwachstumsperiode eintritt (Fig. 55), enthält neben einem grossen, meist exzentrisch gelegenen und kompakten Nukleolus zahlreiche, mit Chromatinfarbstoffen, insbesondere mit Eisenhämatoxylin, tingierbare korpuskuläre Elemente. Viele von ihnen haben die Gestalt von scholligen Bändern, wie wir sie auf dem Weg der Bukettauflösung haben entstehen sehen. Neben diesen gröberen Bestandteilen sind aber auch feinere, fädige oder aus aufgereihten Körnchen zusammengesetzte Bildungen und anscheinend isolierte Körner und Körnchen in dem Kernraum verteilt. Alle diese Inhaltsgebilde des Kernes sind sehr unscharf konturiert und man sieht oft von ihrer Oberfläche feinste Fäden wegziehen, wie man ja auch zwischen ihnen und insbesondere in der Umgebung des Nukleolus, von dem sie oft radiär wegziehen, feinste Fadenstrukturen wahrnimmt. So

gewinnt man den Eindruck, dass die erwähnten chromatischen Substanzanhäufungen einem überaus feinen und nur an manchen Stellen hervortretenden Kerngerüst aufgelagert sind. Die Kernmembran ist auf dem optischen Querschnitt als scharfe Kontur wahrnehmbar. Ihrer Innenfläche liegen in wechselnden Abständen stets Chromatinpartikel einzeln oder in grösserer Anzahl auf.

Das Plasma der Eizelle, welches anscheinend eine sehr engmaschige Wabenstruktur besitzt, lässt sich nach aussen nicht abgrenzen. Nur bei den älteren Eiern kurz vor ihrem Austritt aus dem Ovarium kann man eine Zellkontur feststellen und auch hier scheint dies nur auf dem Vorhandensein von Spalten zu beruhen, die infolge von Schrumpfung bei der Fixierung zwischen den Eizellen auftreten. Im allgemeinen stellt das Ovarium eine einzige Plasmamasse mit eingelagerten Oozytenkernen dar und erst die austretende Eizelle ist gegen die benachbarten Oozyten deutlich abgesetzt (siehe Fig. 11).

Immer finden wir im Plasma der jüngsten Oozyten dieser Entwicklungsperiode einen die Chromatinfarbstoffe annehmenden Einschluss, der zunächst nur in Form eines Körnchens auftritt, das nicht grösser ist als die kleinen Chromatinkörner im Kern. Zumeist liegt dieses Gebilde einem Pol des ovalen Oozytenkernes gegenüber nahe der Kernmembran, jedoch nur hie und da dieselbe direkt berührend. Bald wächst dieser Körper zu einem ovoiden Gebilde heran und auf dieser Stufe treffen wir den Plasmaeinschluss in der Oocyte, die unsere Fig. 55 wiedergibt. Das Plasma ist in seiner nächsten Umgebung in der Regel etwas aufgehellte. Von besonderer Bedeutung sind nun die Beziehungen zwischen dem extranukleären Körper und der ihm gegenüber liegenden Stelle der Kernmembran. Diese ist meistens, obwohl eine direkte Berührung mit dem Aussengebilde nicht statthat, der Ausdehnung des Plasmaeinschlusses entsprechend eingebuchtet und oft sieht man ferner, dass gerade dieser Stelle der Kernmembran besonders viele und grössere Chromatinpartikel innen anliegen.

Mit dem fortschreitenden Wachstum des Kernes geht nun eine weitere Verteilung seines chromatischen Inhalts auf das Gerüst vor sich. So weit geht dieser Prozess allerdings niemals, dass in dem Kern keine Chromatinzüge und -partikel mehr zu sehen wären, dass wie in manchen Eiern von *Proteus* (Jørgensen

[1910]) eine Zerstäubung des Chromatins einträte. Aber die scholligen Züge, die in ihrem Bau noch den Charakter des ehemaligen Buketts bewahren, werden seltener; an ihrer statt sieht man schwächere Chromatinzüge, die sich allerdings nur über eine ganz kurze Strecke ausdehnen und es herrschen die fädigen Strukturen vor. Einen so beschaffenen Zustand repräsentiert der Kern der Fig. 56. Die eben besprochene Veränderung erhält aus einem Vergleich mit dem Kerne der Fig. 55, dem gegenüber der jetzt in Rede stehende natürlich grösser ist, aber von dem er sonst, d. h. in betreff des Nukleolus, der Membran, der Form (letzteres im allgemeinen ohne Rücksicht auf die Besonderheit des Kernes der Fig. 55) nicht wesentlich abweicht. Was die deutoplasmatische Bildung betrifft, so kann sich diese auf der vorliegenden Entwicklungsstufe der Oozyte noch ebenso verhalten, wie auf der vorigen. In vielen Fällen liegt auch diesem Kern ein einziger Plasmaeinschluss an einem Pole nahe, wenn nicht schon jetzt, wie es später immer der Fall ist, mehrere Plasmaeinschlüsse zu konstatieren sind. Für unsere Zeichnung (Fig. 56) haben wir einen besonderen Fall gewählt, der in dieser Deutlichkeit sehr selten ist. Der Plasmaeinschluss, welcher in diesem Ei nach links von dem oberen Kernpol sich findet, setzt sich, wie man durch Drehen der Mikrometerschraube einwandfrei feststellen kann, in den Kernraum hinein fort und sein Fortsatz schliesst sich an ein der Membran nahe liegendes Chromatinsgebilde an. Man beobachtet auch, dass in der nächsten Umgebung der Stelle, wo diese wurstförmige Chromatinbildung die Kernmembran durchsetzt, der strichförmige Ausdruck der Kernmembran auf dem Querschnittsbild verwischt ist.

Eine Strecke weiter unten liegt an der Innenfläche der Kernmembran ein Chromatinpartikel und ihm entsprechend weist das anliegende Plasma in einem ganz kleinen Umkreis eine eigentümliche, gegenüber seinem sonstigen wabigen Bau als homogen zu bezeichnende Beschaffenheit auf. Eine Störung in der Integrität der Kernmembran ist hier nicht festzustellen.

Ein nächstes Stadium der wachsenden Oozyte zeigt die Fig. 57. Der Kern ist gegenüber dem vorausgehenden nicht beträchtlich gewachsen. Wir können aber nicht sagen, ob nicht die individuellen Schwankungen in der Grösse der Eier das Wachstum in diesem Fall zu gering erscheinen lassen. Die verglichenen Kerne

stammen zwar aus einem Ovarium, sonst dürften sie ja überhaupt nicht gegeneinander gehalten werden; aber auch die Beachtung dieser Voraussetzung gibt noch kein zuverlässiges Urteil über das wirkliche Maß der Grössenzunahme zwischen den einzelnen Stadien der Oozyten dieser Periode; denn es sind sicher individuelle Schwankungen in dieser Beziehung vorhanden, indem auch die Eier ein und desselben Tieres eine verschiedene Endgrösse erreichen, was auch in anderen Fällen, so z. B. beim Axolotl von Fick (98) und bei Proteus von Jörgensen (10) festgestellt worden ist. Der Kern der Fig. 57 unterscheidet sich von dem der Fig. 56 also nicht so sehr durch seine Grösse, als vielmehr durch die Beschaffenheit des Kerninhalts und durch die Anzahl und die Formation der protoplasmatischen Einschlüsse. Was den ersteren Punkt anlangt, so treffen wir hier ein chromatisches Gerüst, das vielfach aus relativ, d. h. im Vergleich zum jüngeren Stadium, langen und dünnen, oft klumpig angeschwollenen und verzweigten, sowie durch feine Ausläufer miteinander verbundenen Zügen besteht. Daneben finden sich auch kleine Körner und Brocken, und solche sind es, die der Innenfläche der Kernmembran auch hier anliegen. Wie aus der Zeichnung hervorgeht, besteht im Kern nicht etwa ein zusammenhängendes Netz der geschilderten Stränge, sondern man kommt bei der Verfolgung der verzweigten und anastomosierenden Züge immer an ein Ende, wo feinste, eben noch sichtbare Fäden in dem Kernraum sich zu verlieren scheinen, vielleicht aber auch in ein achromatisches Gerüst sich fortsetzen. Freilich sind diese grossen Kerne in den Schnitten niemals ganz enthalten, aber diese Tatsache berührt das eben Gesagte natürlich nicht. Die Plasmaeinschlüsse treten nun sehr in den Vordergrund. Man sieht zuweilen noch Erscheinungen, wie sie oben für die jüngeren Stadien beschrieben worden sind. So kann man auch in der Fig. 57 am rechtsseitigen Umfang, der Kernmembran anliegend, eine Bildung wahrnehmen, die von der in Fig. 56 dargestellten, abgesehen von der dort vorliegenden Besonderheit, nicht wesentlich verschieden sein dürfte. Aber hauptsächlich wird unser Interesse nunmehr auf das ansehnliche Depot offenbar derselben deutoplasmatischen Substanz, die wir bisher nur in kleinen Ansammlungen beobachtet haben, hingelenkt. Diese dunkel tingierte Masse stellt körperlich betrachtet einen unregelmässig geformten Klumpen dar, der etwa $2\frac{1}{2}$ mal so gross ist wie das Kernkörperchen, und der in seinen

zentralen Teilen von kompaktem, peripher aber von aufgelockertem Bau ist. Das Plasma bildet einen hellen Hof um das eingelagerte Gebilde. Die Lage solcher deutoplasmatischer Anhäufungen ist, wie ein weiterer Fall zeigen wird, nicht konstant, aber es ist ein häufiges Vorkommnis, dass sie gegen die Zellgrenze und relativ weit von der Kernmembran entfernt und, wie hier, in einem zungenförmigen Ausläufer des Zellenleibes getroffen werden. Bei Eiern dieser Grösse ist übrigens häufig in der oben gekennzeichneten Weise eine Abgrenzung ihres Plasmaterterritoriums möglich. Neben diesem Hauptkörper finden sich stets noch andere Plasmaeinschlüsse. Sie können in der Form kleiner Körner und Stäbe auftreten (Fig. 59) oder in Gestalt von mehr oder weniger dichten, oft in mehrere wurstförmige und kugelige Teile gegliederten grösseren Substanzhäufungen. Bemerkenswert ist, dass diese Gebilde, auch die kleinsten der Kernmembran in der Regel nicht anliegen, sondern überall im Plasma anzutreffen sind.

Das folgende Oozytenkernbild Fig 60 ist gegenüber dem vorhergehenden von recht charakteristischem Aussehen. Die chromatischen Bildungen, die wir jetzt im Kern antreffen, sind von viel ansehnlicherem Volumen als die Fäden, die den Oozytenkern vorher erfüllt haben. Lange und dicke, zackig konturierte, oft bizarr geformte Chromatinkörper durchziehen jetzt den Kernraum. Neben diesen hervorstechenden und dem Kern sein Gepräge gebenden Chromatinfiguren, die, wie Fig. 58 zeigt, oft auch in der Mehrzahl als nukleolenartige Körper auftreten können, finden wir auch hier kleinere Chromatinkonglomerate und feinfädige Strukturen. Für die deutoplasmatischen Gebilde dieses Stadiums gilt das für das vorhergehende Gesagte. Es lässt sich sehr schwer entscheiden, ob die Zahl dieser Einschlüsse während dieser Periode des Eiwachstums noch zunimmt, oder ob die Gesamtmasse der fraglichen Substanz nun konstant bleibt. Es scheinen hier weitgehende individuelle Schwankungen zu herrschen, und da man nie den ganzen Zelleib auf einem Schnitt vor sich hat, in vielen Fällen auch jetzt noch die Abgrenzung der Zellen gegeneinander nicht gelingt, kann man eine Anschauung über den gesamten Inhalt eines Eileibes am Deutoplasma nur sehr schwer gewinnen.

Der eben geschilderte Zustand des Eies wird festgehalten, bis die Zelle das Ovarium verlässt. In Fig. 61 ist noch einmal

ein solches Endstadium der innerhalb des Ovariums sich vollziehenden Entwicklung abgebildet, und neben diesem liegt eine ganz anders geartete, eben die aus dem Ovarium austretende Eizelle. Die Veränderungen, welche in diesem Moment am Ei vor sich gehen, müssen als eine stürmisch verlaufende, die ganze Eizelle betreffende Umwälzung bezeichnet werden. Im Kern, dessen Nukleolus an den Vorgängen unbeteiligt zu sein scheint, verschwinden die Chromatinstränge und Schollen bis auf einzelne Reste. An manchen Stellen erscheint ein blasses, feinfädiges und weitmaschiges Netz. Dabei ist der ganze Kernraum in erheblichem Maße verdunkelt. Diese Erscheinung kann man allerdings nur bei einer gewissen Intensität der Färbung wahrnehmen. Sie fehlt z. B. bei dem schwächer gefärbten Kern der Fig. 64, um so deutlicher fällt aber bei diesem Kern seine Armut an chromatischer Substanz in die Augen. In der Peripherie des Kernes finden sich besonders dunkel gefärbte, zum Teil schollige, aber auch wolkige Substanzenanhäufungen. Die Plasmaeinschlüsse erfahren eine Vermehrung, und es kommt vor, dass ganze zusammenhängende Lagen chromatisch gefärbter Substanz der Kernmembran aufliegen (Fig. 64). Ausserdem bildet sich oft eine grosse Vakuole im Plasma, die den Kern komprimiert und bohnenförmig gestaltet; sie dehnt sich aber nicht über die ganze Höhe des Keimbläschens aus, so dass man sie nicht auf jedem durch den Kern gelegten Schnitt antrifft (Fig. 62).

Sobald das Ei in den Anfangsteil des Uterus gelangt ist, scheint ein Gleichgewichtszustand erreicht zu sein. Der Kern rekonstruiert sein chromatisches Gerüst wieder zu einer Form, die der im Ovarium zuletzt erreichten sehr ähnlich ist. Damit geht eine Aufhellung des Kernsaftes einher. Während dieser Vorgänge scheint der Nukleolus eine stoffliche Veränderung zu erleiden. Er wird kleiner und blasser, und es treten Vakuolen in seinem Innern auf. Der Protoplasmaleib hat in erkennbarem Maße an Umfang zugenommen. Die Einschlüsse, die zuletzt in ihm aufgetreten waren, sind bis auf einen oder zwei in den Polen des Ovoids gelegene grosse und einige wenige kleine verschwunden. Ihrer Menge, Form und Lage nach entsprechen diese Einschlüsse im Plasma ganz den vor dem Austritt des Eies gebildeten. Es ist daher anzunehmen, dass die auf der Kernmembran des austretenden Eies abgelagerten Bildungen nicht jenen zuerst und

während der ganzen Wachstumsperiode allmählich entstandenen hinzugefügt werden, sondern dass sie sogleich nach ihrem Auftreten wieder resorbiert werden. Vielleicht ist die gezeigte Vakuole im Eileib der Ausdruck für eine massenhaft erfolgende Einschmelzung dieser beim Austritt des Eies gebildeten Substanzen. Auch sprechen eben noch wahrnehmbare, dunklere Stellen des Eileibes dafür, dass in diesen Stadien der angenommene Resorptionsprozess sein Ende erreicht. Es ist sehr wahrscheinlich, dass die Vergrößerung, die der Plasmaleib des ausgewachsenen, im Uterus angelangten Eies gegenüber dem noch im Ovarium befindlichen, wie erwähnt, aufweist, mit Hilfe der resorbierten Massen geschieht. Nun findet auch die Befruchtung des Eies statt. Man sieht einen spiralförmig aufgerollten, scharf konturierten Spermafaden neben dem Eikern liegen. Selten begegnet man einem polyspermen Ei, wie es in Fig. 74 abgebildet ist. Da man in späteren Stadien niemals mehr als einen Spermakern antrifft, so ist anzunehmen, dass entweder überzählige Spermien zugrunde gehen, oder dass die Polyspermie die Eier an der weiteren Entwicklung hemmt. Endlich treten auch die beiden, dem sogenannten Dotterstock entstammenden Zellen an einen Pol heran und bilden die Eihülle. Diesen Zustand des ausgewachsenen, befruchteten und von der Hüllmembran umgebenen Eies repräsentiert die Fig. 65. Diese Stadien sind sehr selten: es scheint, dass das Ei nach seinem Austritt aus dem Ovarium die weiteren Veränderungen bis zum Abschluss der Reifeteilungen sehr rasch durchläuft. So musste die abgebildete Zelle zur Darstellung des Endzustandes, von dem aus dann die eigentliche Prophase der ersten Reifeteilung beginnt, herangezogen werden, obwohl sie des Nukleolus zu ermangeln scheint. Er ist vielleicht in einem vorausgehenden oder folgenden Schnitt enthalten, was aber bei der Schwierigkeit, Kernanschnitte in einem relativ dicken Schnitt zu ermitteln und als zu dem in einem abgetrennten Niveau gelegenen Hauptteil gehörig zu erkennen, nicht festgestellt oder ausgeschlossen werden kann, zumal da man mit der Möglichkeit eines Substanzverlustes beim Mikrotomieren immer zu rechnen hat; vielleicht verbirgt er sich aber auch unter einer Chromatinansammlung. Dass der Nukleolus hier fehlen sollte, ist nicht glaubhaft, da er in allen folgenden Stadien der Prophase der ersten Reifeteilung immer in der besprochenen veränderten Form vorhanden ist.

Es ist am Schlusse dieses Abschnittes noch anzugeben, dass die beschriebenen Kernbilder der wachsenden Oozyten bei allen angewandten Fixierungsmitteln in wesentlich gleicher Weise auftreten. Je nach der angewandten Färbung sind die Strukturen natürlich mehr oder weniger deutlich; die vorgeführten Beispiele sind mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain behandelt.

b) Allgemeiner Teil.

Soweit sie die Struktur des Keimbläschens betreffen, sind die für die II. Periode der Oozytenentwicklung des Zoogonus gemachten Angaben neu. Während sich Grégoire (09) und Schreiners (08) mit diesen Verhältnissen gar nicht beschäftigen, erledigt Goldschmidt in dem beschreibenden Teil seiner Zoogonus-Arbeit die ganze Periode mit folgenden Worten (05, S. 610): „Mit dem Beginn der Wachstumsperiode verschwindet das Spirem wieder und es stellt sich ein lockeres, achromatisches Kerngerüst mit eingestreuten chromatischen Partikeln und einem grösseren, chromatischen Nukleolus her. Die Eizelle und ihr blasiger Kern beginnen nun auf das Vielfache ihres Volumens heranzuwachsen.“

Auch in den anderen, mehrfach erwähnten, die Oogenese von Trematoden betreffenden Arbeiten finden wir keine mit unseren Befunden vergleichbaren detaillierten Angaben über die Keimbläschenstruktur während der Hauptwachstumsperiode.

Unsere Befunde über die deutoplasmatischen Ablagerungen im Eileib dagegen lassen sich mit den von Schellenberg (11) bei *Fasciola hepatica* „ohne Präjudiz für ihre Synthese“ als Dotterkugeln bezeichneten Gebilden und mit den Plasmaeinschlüssen, die v. Kemnitz (13) im Ei von *Brachycoelium salamandrae* findet, vergleichen. Goldschmidt (09) hat dem Auftreten der fraglichen Substanz besondere Aufmerksamkeit geschenkt. Er beschreibt unter Zugrundelegung von Bildern, die mit manchen der unserigen im grossen und ganzen übereinstimmen, eine „Dotterkernbildung“, durch Chromatinausschwitzung aus dem Kern. Wir haben unsererseits die Bezeichnung Dotterkern bei der Beschreibung der Ablagerungen nicht angewandt und halten sie auch nicht für angebracht, weil bei Zoogonus kein dem Dotter anderer Eier vergleichbares Reservematerial entsteht. Wenn Jörgensen (10) davon absteht, ähnliche, von ihm allerdings genauer analysierte

Plasmaeinschlüsse der Oozyten von *Proteus* mit dem Namen Dotterkern zu belegen, weil sie „auch nicht den geringsten morphologischen Zusammenhang mit dem definitiv gebildeten Dotter“ haben, so führt ihn im Grunde die gleiche Überlegung wie uns zur Ablehnung der fraglichen Bezeichnung. Korschelt und Heider (1902, S. 263) sagen, „dass sehr verschiedene Dinge als ‚Dotterkern‘ beschrieben worden sind“. Da nun, wie aus Jörgensens diesbezüglicher Literaturzusammenstellung hervorgeht, die Anschauungen der verschiedenen Autoren über die Herkunft des sogenannten Dotterkernes weit auseinander gehen, je nachdem sie eine Entstehung desselben im Plasma oder aus dem Kern annehmen oder von einer Meinungsäusserung über diesen Punkt ganz absehen zu müssen glauben, wäre ja mit der Bezeichnung „Dotterkern“ über die Natur der Plasmaeinschlüsse nichts präjudiziert und höchstens läge darin der Ausdruck der Meinung, dass die Substanzen trophische Funktion für das Ei haben. Dies aber ist, wie auch aus unserer Darstellung hervorgeht, wahrscheinlich. Indessen ist es doch wohl besser, eine bestimmte Bezeichnung für solche deutoplasmatische Bestandteile der Zelle vorerst zu vermeiden, da wir heute in den bedeutungsvollen Fragen nach dem Wesen der verschiedenen Plasmaeinschlüsse wie der „Chromidien“ und „Mitochondrien“ noch nicht über das Stadium der vorurteilslosen Sammlung von Beobachtungen hinausgekommen sind.

Nach Goldschmidt steht das erste Auftreten des Dotterkernes „zweifelloos in Beziehung zu dem Kern der Eizelle“. „Man sieht zunächst auf der Oberfläche des ganzen Kernes zerstreute chromatische Massen wie feine Niederschläge auftreten, man erhält den Eindruck, dass sie auf der Oberfläche der Kernmembran sozusagen ausgeschwitz sind. Sie liegen der Kernmembran so dicht auf, dass diese vollständig undeutlich wird und die Kerngrenze kaum zu bestimmen ist. Später kondensieren sich diese Partikel dann zu mehr oder minder kompakten Brocken . . . Bisweilen . . . sitzt die Hauptmasse dieser Dotterkernsubstanz kappenartig dem einen Pol des an dieser Stelle undeutlich begrenzten Kernes auf. Nunmehr fließen die verschiedenen Massen zu einigen wenigen grossen Brocken zusammen, die sich fast intensiver als das Kernchromatin färben und stets in der Nähe des Kernes liegen bleiben. Meist kommt es dann zur Ausbildung eines einheitlichen

Dotterkernes . . . Nur in seltenen Fällen findet man noch im ausgebildeten Ei den Dotterkern in mehrere Brocken zerteilt.“

Für Goldschmidt ist damit die Herkunft des Dotterkernes aus dem Eikern sicher erwiesen. v. Kernenitz dagegen erklärt ganz bestimmt, dass die deutoplasmatischen Substanzen, die bei seinem Objekt „sowohl als grössere Brocken und Schollen als auch als Stäbchen (Chondriokonten), wie in Gestalt feiner Mitochondrien auftreten können und häufig in einem schnabelartigen Fortsatz des Plasmas eingelagert sind“ und die seiner Ansicht nach sicherlich den von Goldschmidt bei Zoogonus als chromidialer „Dotterkern“ bezeichneten Gebilden entsprechen „jedenfalls im Plasma“ entstehen. Chromatinaustrittsfiguren sind diesem Autor niemals zu Gesicht gekommen. Er hält die deutoplasmatischen Ablagerungen, wie aus den zitierten Worten hervorgeht, für eine Art von Plastosomen, ohne allerdings durch spezifische Färbungen hierfür einen Beweis anzutreten.

Wenn wir zunächst die Beschreibung, welche Goldschmidt für das Entstehen des „Dotterkernes“ geliefert hat, mit unseren Beobachtungen vergleichen, so decken sich manche davon, nämlich die, welche das aus dem Ovarium austretende Ei betreffen, vollständig mit seinen Angaben. Auch wir haben, wie Fig. 64 deutlich zeigt, Kerne gesehen, auf deren Membran chromatisch gefärbte Partikel in grosser Zahl, stellenweise in einheitlicher Masse liegen. Die Fig. 63 zeigt die Aufsicht auf einen solchen Eikern und gibt eine körperliche Vorstellung davon, dass der ganze Kern wie bespickt ist mit aufgelagerten Substanzen. Solche Bilder scheinen eine glänzende Bestätigung der von Goldschmidt vertretenen Anschauung zu liefern. Aber es handelt sich bei diesen die Erscheinungen der „Chromatin-Ausschwitzung“ darbietenden Eiern, wie gesagt, um solche, die das Ovarium eben verlassen. Niemals kommen solche Zustände bei den jüngeren Oozyten der Hauptwachstumsperiode vor. Die als „Dotterkern“ im Sinne Goldschmidts zu bezeichnenden Bildungen sind aber schon vor dem Auftreten der für ihre Bildung verantwortlich gemachten Erscheinungen vorhanden, sind zuerst als kleine neben dem Kern gelegene Ablagerungen, dann als grössere Deutoplasmaansammlungen erschienen, wobei immer wieder kleinere Schollen im Plasma offenbar neu aufgetreten sind. Es ist also nicht richtig, wenn Goldschmidt nach der Schilderung des Chromatinaustritts fortfährt:

„Nunmehr fließen die verschiedenen Massen zu einigen wenigen Brocken zusammen etc.“ Die grossen Brocken waren vielmehr schon vorher entstanden und überdauern, anscheinend unberührt davon, die Umwälzungen, die in der Eizelle zum Teil unter dem Bilde der „Chromatin-Ausschwitzung“ bei ihrem Austritt aus dem Ovarium vor sich gehen. Goldschmidt hat also die eigentliche Entstehung des „Dotterkernes“ gar nicht geschildert. Wenn wir auch zu dem Schlusse kommen werden, dass sich seine Annahme eines Chromatinaustritts für die aus dem Ovarium lösende Eizelle sehr wohl begründen lässt, so können wir andererseits, wie dann zu zeigen sein wird, seiner Anschauung, dass die deutoplasmatischen Massen, deren Entstehung während der ganzen Hauptwachstumsperiode vor sich geht, chromidialer Natur sind, d. h. aus dem Kernchromatin stammen, nicht ohne weiteres beitreten, sondern wir werden noch einer anderen Vorstellung über die Herkunft der deutoplasmatischen Substanz Raum geben müssen.

Unsere Beobachtungen lassen es geboten erscheinen, zwei Prozesse während der Hauptwachstumsperiode der Eier streng auseinander zu halten. Wir müssen erstens die Bildung der deutoplasmatischen Substanz und zweitens die geschilderten stürmischen Umwandlungen innerhalb der Eizelle im Moment ihres Austritts aus dem Ovarium unterscheiden. Dann haben wir uns zuerst die Frage vorzulegen, ob diese beiden Vorgänge nur verschieden intensive Entwicklungsphasen ein und derselben stofflichen Umwandlung sind, oder als unabhängig voneinander zu erachten sind. Es steht unserer Meinung nach ausser Zweifel, dass wir es hier mit zwei voneinander unabhängigen Prozessen zu tun haben. Wie bereits hervorgehoben, sind die deutoplasmatischen Ablagerungen schon vor dem Erscheinen der charakteristischen Austrittsphänomene des Eies vorhanden und haben nach dem Abklingen derselben keine Vermehrung erfahren. Immerhin aber könnten beide Prozesse wesensgleich sein, es könnte sich immer um eine im ersten Falle allmählich vor sich gehende, im zweiten um eine plötzlich einsetzende und in grossem Ausmaße ablaufende Chromatinausstossung handeln. Somit entsteht die für jeden Prozess getrennt zu behandelnde Frage, ob sichere Anzeichen dafür vorhanden sind, dass Kernchromatin ins Eioplasma übertritt.

Wenn wir die Entstehung der deutoplasmatischen Substanzen ganz unvoreingenommen betrachten, so können wir für ihre

genetische Ableitung aus dem Chromatin des Kernes nur folgende Beobachtungen verwerten. Wir haben gesehen, dass gegenüber der Stelle, wo in unmittelbarer Nähe des Kernes der erste Plasmaeinschluss gelegen ist, die Kernmembran eine Einbuchtung aufweist, die wir vielleicht auf eine Veränderung derselben zurückführen können; immer liegen der Kernmembran hier Chromatinkörner in etwas grösserer Zahl als an ihrer übrigen Innenfläche auf. Weiterhin beobachteten wir hie und da einmal, dass sich eine im Plasma gelegene Substanzanhäufung in das Innere des Kernes fortsetzt. Diese Erscheinungen könnte man für den morphologischen Ausdruck eines Chromatinaustrittes ansprechen. Nur dann übrigens, wenn man einen solchen Vorgang annimmt, kann man die deutoplasmatischen Substanzen für Chromatin oder „Chromidien“ erklären; denn ihr färberisches Verhalten allein berechtigt hierzu noch nicht. Mit v. Kemnitz (12, S. 579) müssen wir nämlich sagen, dass für die Entscheidung, ob eine im Plasma gelegene Substanz als Chromatin bezeichnet werden darf, nicht ihr tinktoriell-morphologisches Verhalten, sondern lediglich die genetischen Beziehungen zum Kern massgebend sein dürfen. Das färberische Verhalten unserer deutoplasmatischen Substanz ist durchaus nicht eindeutig. Am intensivsten tingieren sie sich natürlich mit Eisenhämatoxylin, nur schwach färben sie sich mit Hämatoxylin und Boraxkarmin, treten dagegen bei Anwendung der Bendaschen Mitochondrienfärbung in einer für die Plastosomen charakteristischen Tinktion hervor und nehmen in älteren Eizellen, die einen einheitlichen „Dotterkern“ besitzen, bei Anwendung der Nukleolenfärbung von Montgomery intensiv Eosin an. Hier könnte also wirklich nur die genetische Beziehung zum Kern ein Recht geben, in den Plasmaeinschlüssen ausgestossenes Chromatin zu sehen.

Während also gewisse morphologische Erscheinungen allein der Annahme eines Chromatinaustrittes aus dem Kern das Wort reden, sprechen eine Reihe gewichtiger Momente gegen eine solche Möglichkeit.

Erstens werden die erwähnten Erscheinungen, wie gesagt, nur sehr selten beobachtet und treten durchaus nicht häufiger auf, wenn die Ablagerung der deutoplasmatischen Substanz reichlicher wird. Würden schwerwiegende sonstige Argumente für einen Chromatinaustritt ins Feld geführt werden können, so

brauchte man diese Überlegung freilich nicht als triftigen Gegengrund zu betrachten; denn man könnte annehmen, dass das Chromatin in gelöstem Zustand und somit in nicht wahrnehmbarer Weise die Kernmembran passiere, eine Hypothese, die wiederholt z. B. von Moroff (10), welcher sogar von „farblosen Chromidien“ spricht, aufgestellt worden ist. Aber im Zusammenhang mit den folgenden Bedenken muss man wohl auch den angeführten Beobachtungstatsachen einiges Gewicht beilegen.

Zweitens lehrt ein Blick auf die Fig. 59, dass die deutoplasmatischen Ansammlungen kleinsten Kalibers durchaus nicht in der Regel in unmittelbarer Nähe des Kernes gelegen sind und dass vollends die grossen Schollen ganz nahe am Zellrande, also so weit wie möglich vom Kern entfernt, sich befinden können, gerade so, wie dies v. Kemnitz bei *Brachycoelium salamandrae* beobachtet hat. Dabei führen ganz sicher keine Bahnen von Substanzpartikeln von der etwaigen Herkunftsstelle, dem Kern, zur Ablagerungsstätte hin. Nun wird man ja auch diesen Tatsachen für sich allein keine hinreichende Beweiskraft gegen die fragliche Möglichkeit zuerkennen müssen; denn man könnte einwenden, dass das Chromatin in gelöstem Zustande den Zellenleib durchwandere, bis es an einer vom Kern relativ weit entfernten Stelle kondensiert werde. Dabei wäre aber die Frage schwer zu beantworten, warum dann die ausgeschiedenen kleinsten Chromatinquantitäten sich zu grösseren Anhäufungen zusammenfinden und nicht, wenn schon nach einer gewissen Zeit die Bedingungen für die Ablagerung eintreten, eine viel grössere Menge kleiner Partikel im Ei zerstreut gefunden werden. Es wäre also noch eine weitere unbeweisbare Hilfsannahme zu machen, etwa so, dass man die im Anfang des Abscheidungsprozesses niedergeschlagenen Teilchen für Kristallisationszentren hielte, an welche die neuen Massen dann immer wieder anschliessen. Sehr viel ungezwungener ist es dagegen, aus den vorgeführten Bildern zu schliessen, dass eine im Plasma gelöste Substanz an beliebigen Stellen zum Ausfall komme; hierdurch wäre sowohl das multi-lokuläre Auftreten von Niederschlägen im Zellenleib, wie auch das Vorkommen von grösseren Ansammlungen der ausgefallenen Substanz verständlich. Die quantitativen Unterschiede würden dann dadurch hervorgerufen, dass die Bedingungen zum Ausfall der gelösten Substanz einmal nur an einer punktförmigen Stelle, ein

anderes Mal aber in grösserem Umkreis innerhalb des Plasma-leibes eintreten können.

Drittens ferner drängt sich uns die Annahme einer Chromatinausstossung doch nur dann mit einiger Notwendigkeit auf, wenn wir am Kern Wahrnehmungen machen, die eine ad maximum beanspruchte Chromatin-Aufspeicherungsfähigkeit vermuten lassen und wenn wir ferner beobachten können, dass der Kern desto ärmer an färbbarer Substanz wird, je weiter der angenommene Chromatinaustritt fortschreitet. Letztere Bedingung wenigstens ist bei jenen Oozyten von Proteus gegeben, bei denen Jörgensen (10) die Bildung von Chromidien für erwiesen hielt. v. Kemnitz hat auf Grund eben dieser Überlegung gewisse hierher gehörige Befunde Schaxels (10) in Zweifel gezogen, wenn er meint (S. 583), die Schaxelschen Untersuchungen bewiesen durchaus nicht, „dass die bei „Chromasie“ des Plasmas dann gleichzeitig zu postulierende Achromasie des Kernes wirklich besteht“. Bei unserem Objekt nun kann man zu der Zeit, da die deutoplasmatischen Substanzen entstehen, nicht nur keine Abnahme des Chromatins am Kern beobachten, sondern das Gegenteil ist der Fall. Mit dem Wachstum des Kernes geht eine Anreicherung desselben an Chromatin vor sich, wie eine Betrachtung der Fig. 55–60 ohne weiteres dartut.

In Anbetracht der angeführten Bedenken können wir der Annahme eines Chromatinaustrittes nicht so bereitwillig wie Goldschmidt Raum geben. Wir werden aber in unserem Zweifel noch bestärkt, wenn wir sehen, dass weitere Überlegungen, zu denen wir in Übereinstimmung mit v. Kemnitz (12) gekommen sind, eine ganz andere, der besprochenen Möglichkeit gerade entgegengesetzte Anschauung nahe legen.

v. Kemnitz glaubte bei seinen Untersuchungen über die Morphologie des Stoffwechsels bei *Ascaris lumbricoides* in den Muskelzellen dieses Organismus eine Chromatinsyndese aus dem Plasma heraus annehmen zu müssen, und er begründet diese Annahme einer sichtbaren Chromatinzufuhr aus dem Plasma in den Kern hinein eingehend gegenüber der Chromidienlehre, nach welcher seine Bilder zunächst einen Chromatinaustritt illustrieren würden (S. 559–564). Und v. Kemnitz weist auch (S. 584) auf Angaben anderer Autoren hin, die zugunsten einer im Plasma vor sich gehenden Chromatin- resp. Prochromatinsyndese sprechen.

v. Kemnitz verallgemeinert dann seinen Befund, indem er sagt: „Ich halte damit den Beweis für erbracht, dass in einer ganzen Reihe von Fällen, die im Sinne der Chromidienlehre verwertet wurden, tatsächlich der umgekehrte Prozess stattfindet, dass den morphologisch sichtbar zu machenden Chromatin- bzw. Prochromatinsyndesen innerhalb des Zellplasmas eine viel grössere Bedeutung zukommt als man bisher angenommen hat“.

Ob die Resultate v. Kemnitz's in diesem Punkte wirklich über jeden Zweifel sicher gestellt sind, und ob sie in der vom Autor angegebenen Weise Anspruch auf allgemeinere Gültigkeit haben, brauchen wir hier nicht zu erwägen. Für uns ist von Bedeutung lediglich der Hinweis auf die Möglichkeit, dass die von den Anhängern der Chromidienlehre als Chromatinaustritts-Phänomene gedeuteten Bilder und also auch entsprechende Erscheinungen unserer Oozyten im Anfang der Hauptwachstumsperiode an und für sich ebenso gut durch den umgekehrten Prozess zustande kommen könnten. Diese Möglichkeit kann der Unvoreingenommene nicht von der Hand weisen. Und auch wir wurden für unsere Fälle durch die gegen den Chromatinaustritt sprechenden oben angeführten Bedenken, besonders aber durch die Würdigung der im Ovarium herrschenden Bedingungen des Zellstoffwechsels dazu gedrängt, die besprochene Möglichkeit in Betracht zu ziehen.

Was die im Ovarium bestehenden Bedingungen für den Zellstoffwechsel in besonderer Berücksichtigung des Chromatins anbelangt, so haben wir uns darüber folgende Vorstellung zu machen.

Das Ovarium des *Zoogonus* (Fig. 11) stellt ein Syncytium dar. Die Kerne beherrschen gemeinschaftlich eine anscheinend ganz einheitliche Plasmamasse. Insbesondere während der Wachstumsperiode der Oozyten, da die Kerne und auch die zwischen ihnen gelegenen Plasmaterritorien eine Massenzunahme erfahren, müssen wir eine lebhafte stoffliche Wechselwirkung zwischen Kern und anliegendem Protoplasma voraussetzen. Was das Chromatin betrifft, so wird es zu dieser Zeit, wie schon betont, entsprechend dem Kernwachstum vermehrt. Dies kann nicht anders geschehen als durch die Einverleibung von im Plasma befindlichen Vorstufen

des Chromatins in den Kern. Es muss also vom Kern aus betrachtet auf diese Stoffe eine zentripetale Wirkung ausgeübt werden. In einer gegen die Umgebung abgegrenzten Zelle nun ist diese Wirkung auf alle Teile des Plasmaleibes einheitlich. Im syncytialen Verbands aber muss es oft vorkommen, dass derartige von verschiedenen nachbarlichen Kernen auf das gemeinsame Plasma ausgeübte Einflüsse sich widerstreben, ja sich aufheben. Die für den Kern bestimmten und durch Fermente vielleicht schon zur Einverleibung vorbereiteten Substanzen werden durch die von verschiedenen Richtungen her auf sie einsetzenden Kräfte festgehalten und können ihrem Bestimmungsort oft gar nicht zugeführt werden, während bei der reichlichen Stoffzufuhr, die wir für das Ovarium anzunehmen haben, immer neue Substanzen derselben Art gebildet werden. So kann man sich vorstellen, dass gerade wegen der engen nachbarlichen Beziehungen der lebhaft funktionierenden Kerne in den zwischen ihnen gelegenen, relativ zu kleinen Plasmastrecken Störungen im Stoffwechsel eintreten. Diese Störungen bestehen in einer Prochromatinretention im Plasma und deren Ausdruck ist eben die Ablagerung deutoplasmatischer Massen. Es ist denkbar, dass die Chromatinvorstufen, wenn sie einmal in grösserer Menge in ungelösten Zustand übergeführt worden sind, dann nicht mehr für ihre eigentliche Verwendung brauchbar sind, sei es, dass ihre erneute Verflüssigung nicht mehr rechtzeitig ausgeführt werden kann, sei es, dass bei dem Reichtum des Plasmas an gelöster Substanz auf die ausgefallenen Mengen keine Wirkung mehr ausgeübt wird. Ausgenommen sind aber vielleicht von diesem Verharren in ungelöstem Zustand Substanzpartikel, welche in unmittelbarer Nähe des Kerns ausgefallen sind. Sie können, wenn die entgegenwirkenden Kräfte nachlassen, dem Kern noch einverleibt werden, und hierbei entstehen vielleicht die morphologischen Erscheinungen des „Chromatineintrittes“ in den Kern.

Wenn wir damit den Vorgang der Prochromatinretention und des etwaigen Chromatineintrittes in sichtbarer Form in Erwägung gezogen haben, so handelt es sich natürlich nur um eine Deutung der Befunde. Aber diese Deutung dürfte nach all dem Gesagten begründeter erscheinen als die Annahme eines Chromatinaustrittes.

Dies wird noch mehr hervortreten, wenn wir nun die Vorgänge an dem aus dem Ovarium austretenden Ei im Sinne der

oben aufgestellten Frage betrachten. Hier kommen wir nämlich ohne jede Einschränkung zu der Überzeugung, dass in grossem Umfang Chromatin aus dem Keimbläschen ausgestossen wird. Alle nur denkbaren Kriterien sprechen für den Chromatinaustritt. Tatsächlich vermögen wir bei der Betrachtung eines Querschnittes durch einen solchen Kern (Fig. 64) und bei der Aufsicht auf denselben (Fig. 63) keinen anderen Eindruck als den einer Chromatinausschwitzung zu gewinnen. Dazu kommt dann noch, dass der Kern die chromatischen Strukturen, die er vorher in grosser Zahl besessen hatte (Fig. 60), nunmehr fast völlig verliert, und dass gleichzeitig der ungeformte Inhalt des Keimbläschens, also der Kernsaft, die Chromatinfarbstoffe sehr intensiv annimmt. Im Plasmaleib tritt dabei gewöhnlich eine grosse Vakuole auf (Fig. 62), so dass wir annehmen müssen, dass entweder neben den geformten Partikeln auch Flüssigkeit aus dem Kern ins Plasma gelangt, oder dass, was das wahrscheinlichere ist, die ausgestossenen Chromatinteilchen sogleich wieder aufgelöst werden.

So steht es also für uns fest, dass ein Chromatinaustritt aus dem Oozytenkern erfolgt und in diesem Punkt bestätigen wir die Darlegungen Goldschmidts (05). Die Tatsache aber, dass hier bei *Zoogonus* ein ausser Zweifel stehender Chromatinaustritt statt hat, ist von prinzipieller Bedeutung. Bekanntlich stehen sich die Anschauungen der Vertreter der von R. Hertwig durch seine an Protozoen erhobenen Befunde begründeten „Chromidienlehre“ (Goldschmidt, Moroff, Popoff u. a.) und die jener Forscher, die wie Meves, Duesberg u. a. den Standpunkt der extranukleären plasmatischen Entstehung der deutoplasmatischen Substanzen (Plastosomen, Mitochondrien, Chondriokonten) vertreten, schroff gegenüber (siehe Duesberg 1912). Die ablehnende Haltung der Vertreter der letzteren Gruppe gegenüber der chromidialen Natur gewisser Plasmaeinschlüsse geht nun so weit, dass sie die Möglichkeit eines Chromatinaustrittes, wie ihn z. B. Schaxel (10) und Buchner (09) bei ihren Objekten angenommen haben, überhaupt in Zweifel ziehen. Sogar die diesbezüglichen Beobachtungen von Jörgensen (10) am Ei des *Proteus*, die auch einer strengen Kritik standhalten dürften, wurden von Meves (10) bestritten und Duesberg (12) spricht ihnen ihren „allgemeinen Wert“ ab, weil sie sich auf pathologische Kernbilder beziehen könnten. Demgegenüber muss nun

auch der Chromatinaustritt aus dem Oozytenkern des Zoogonus an die Seite der gleichsinnigen Feststellungen von Schaxel, Buchner u. a. gestellt werden. Aber wir konnten nicht zu der Anschauung gelangen, dass die Bildung der deutoplasmatischen Substanz vom Kern aus erfolge und glaubten ferner angeben zu können, dass nach erfolgtem Chromatinaustritt (Fig. 65) keinerlei Vermehrung der deutoplasmatischen Substanzen eingetreten ist. Freilich bedürfte es zur genauen Feststellung in dieser Richtung der ausgedehnten Anwendung spezifischer Methoden, wozu bei einem Material, das nicht in beliebig grosser Menge zu bekommen ist, keine Möglichkeit gegeben war. Indessen müsste doch, wenn der ausgiebige Chromatinaustritt eine Chromidienbildung zur Folge hätte, in dem ausgewachsenen Ei des Zoogonus eine ungleich grössere Menge von Plasmaeinlagerungen vorhanden sein als vor erfolgtem Chromatinaustritt. Wäre dies der Fall, so hätte es uns auch bei blosser Eisenhämatoxylinbehandlung nicht entgehen können. Wenn also hier Chromatinaustritt ohne Chromidienbildung vorliegt, so spricht dies im Sinne jener Autoren, welche eine plasmatische Entstehung der von anderer Seite als „Chromidien“ bezeichneten Plasmakörper annehmen.

Die Chromatinausstossung aus dem Eikern des Zoogonus gab Goldschmidt (05) Veranlassung, eine schon von Lubosch (02) vertretene und zuerst, wenn auch nicht mit den später eingeführten Bezeichnungen von Rückert (92) bei seinen Untersuchungen am Selachierei begründete Anschauung von neuem zu betonen und auszubauen. Er sieht nämlich in dem Chromatinaustritt ein Mittel, durch welches die beiden sonst im anscheinend einheitlichen Kern vereinigten Chromatinarten, das Trophochromatin und das Idiochromatin, voneinander getrennt werden, was für das Ei deswegen von besonderer Bedeutung sei, weil dadurch die Erbsubstanz — das Idiochromatin — in reiner Form den Reifungsteilungen zugeführt werde. Wir wollen hier auf diese Theorie nicht eingehen; sie wäre im Rahmen der Frage nach der Chromosomenkontinuität zu erörtern.

Wir können aber zum Schlusse im Gegensatz zu Goldschmidt, welcher sich über die Bedeutung des Chromatinaustrittes verbreitete, auf die mutmassliche Ursache desselben hinweisen. Wir haben gesehen, dass der plötzlich einsetzende und rasch abklingende Chromatinaustritt in dem Moment erfolgt, da die

Eizelle das Ovarium verlässt oder mit anderen Worten, da sie aus dem syncytialen Verbande, welchen das Ovarium darstellt, zur Selbstständigkeit gelangt. In diesem Umstande scheinen die in der Zelle vor sich gehenden Veränderungen begründet zu sein. Konnte der Kern vorher, allerdings im Wechselspiel mit seinen Nachbarn, mit einem grossen, gemeinsamen Plasmaterritorium einen lebhaften Stoffaustausch unterhalten, so ist er im Moment der Lösung der Oozyte aus dem Syncytium genötigt, sich auf einen begrenzten Plasmaleib einzustellen. Es muss die dem selbstständig gewordenen Zellorganismus zukommende Kern-Plasma- oder Chromatin-Plasma-Relation (R. Hertwig [03]) hergestellt werden und dies geschieht dadurch, dass sich der Kern des Überschusses an Chromatin bis zu der der Zelle entsprechenden Grenze entledigt.

III. Periode der Oozytenentwicklung.

a) Befunde.

1. Die Prophase der I. Reifungsteilung.

Nach ihrem Austritt aus dem Ovarium besitzt die Eizelle, wie die Fig. 65 zeigte, einen Kern, in welchem locker gefügte, chromatische Stränge von wechselndem Kaliber anscheinend auf einem feinfädigen achromatischen Gerüst verteilt sind (siehe S. 102).

Ein etwas älterer Kern, der in der Fig. 66 abgebildet ist, zeigt nun eine ganz andere Chromatinverteilung. Hier sind kompaktere und über längere Strecken verfolgbare Chromatinzüge vorhanden, neben welchen freilich auch noch Chromatinansammlungen von der vorher beobachteten Art bestehen. Die längeren, oft schleifenförmig abgebogenen Züge entsenden von ihrer unscharf konturierten Oberfläche da und dort feine und ganz blasse Stränge, die in das achromatische Gerüst des Kernes überzugehen scheinen. Der Nukleolus färbt sich nur mehr schwach und ist bedeutend kleiner als in den Keimbläschen der Hauptwachstumsperiode.

Wenn wir sehen, dass mit dem Hervortreten der chromatischen Züge die ehemaligen unregelmässigen Schollen und Stränge im Kern bis auf einige wenige verschwinden und dass der achromatische Teil des Keimbläschens nunmehr sehr deutlich wird, so dürfen wir uns wohl vorstellen, dass das gesamte chromatische Material des Kernes, das vorher über das ganze un-

gefärbte Gerüst verteilt war, zu den nunmehr vorliegenden Strängen zusammenfließt.

Ein weiter vorgeschrittenes Stadium dieses Prozesses zeigt die Eizelle der Fig. 67. In diesem Keimbläschen ist das Chromatin auf eine zwar nicht genau feststellbare aber offenbar kleine Anzahl von Strängen konzentriert. An einzelnen Stellen scheint noch, wie die anastomosierenden Ausläufer der Chromatinzüge vermuten lassen, ein Zuströmen von Chromatinpartikeln vor sich zu gehen. Aber in der Hauptsache ist die färbare Substanz auf die neuen Inhaltsgebilde des Kernes vollständig verteilt. An dem nahe an den (dem Keimbläschen aufgelagerten) Spermafaden heranreichenden Strang fällt zum ersten Mal eine deutliche Duplizität auf. Sonst ist von einer solchen noch nichts wahrzunehmen. Die Chromatinzüge scheinen aus hintereinander gereihten gröberen und feineren Schollen zu bestehen und es ist nirgends die Andeutung einer Doppelstruktur vorhanden. Der Nukleolus birgt in diesem Fall eine grosse Vakuole.

Dass in manchen Fällen die Chromatinzüge schon gleich bei ihrer Entstehung doppelt sein können, sei es, dass sie von vornherein so angelegt oder gleich nach ihrer Bildung gespalten werden, zeigt das Keimbläschen der Fig. 68. Der hakenförmig gekrümmte Teil des am meisten hervortretenden Chromatinstranges besitzt noch den lockeren Bau und die Ausläufer, wodurch er sich als im Entstehen begriffen erweist, setzt sich aber in zwei kompakte und relativ scharf konturierte Fäden fort, die an ihren Enden eine leichte Verdickung tragen. Die übrigen gefärbten Bestandteile des Kernes sind anscheinend noch lange nicht so weit entwickelt, wie die Chromatinstränge der in Fig. 67 abgebildeten Eizelle.

Die folgenden Stadien erweisen nun, dass diese Stränge zu den definitiven Chromosomen der ersten Reifungsteilung umgewandelt werden. Infolge des Umstandes, dass die Veränderungen, die sich dabei abspielen, an den einzelnen Chromosomen sehr verschieden rasch vor sich gehen, kann man in einem einzigen Keimbläschen alle Stufen der Chromosomenbildung nebeneinander antreffen. So zeigt der Kern der Fig. 69 noch ein Element, das eben entsteht und zwar scheint hier eine Entstehung durch Vereinigung von getrennt und ziemlich weit voneinander entfernt gebildeten, dünneren Fäden vorzuliegen. An der gegenüber-

liegenden Seite des Keimbläschens befinden sich zwei übereinander gelagerte Chromatinstränge, die etwa auf der Stufe der im Ei der Fig. 66 befindlichen stehen. Dagegen ist das lange umgebogene Element von ganz anderer Beschaffenheit. Es besteht aus zwei dünnen zackig konturierten und kompakten Fäden, welche parallel nebeneinander verlaufen, so dass nur ein schmaler Spalt zwischen ihnen bleibt, sich etwa in der Mitte ihrer Länge überkreuzen und mit ihren kolbig verdickten Enden auseinander weichen. Die beiden am weitesten gegen die Mitte des optischen Kernquerschnittes vorgeschobenen Chromosomen sind ebenfalls doppelt, doch ganz bedeutend kürzer als die übrigen. Dabei ist das eine derselben, dessen Längshälften sich überkreuzen, in so auffallendem Maße dicker und kompakter als das lange Chromosom, dass man zur Annahme geführt wird, es werde aus einem langen und dünnen durch Verkürzung entstanden sein. In dem vorliegenden Keimbläschen ist das achromatische Gerüst besonders deutlich ausgeprägt; man sieht hier, dass es nicht aus gleichmässigen Fäden, sondern aus kompakteren durch mannigfach gestaltete Fortsätze und feine Fäden miteinander vielfach verbundenen Formationen besteht. Denkt man sich auf diese blassen Figuren das Chromatin, welches jetzt in den Chromosomen enthalten ist, wieder verteilt, so gelangt man zu einem Bilde des Kernes ganz gleich jenem, welches das Keimbläschen vor der Herausbildung der Chromosomen dargeboten hat. Diese Überlegung bestärkt uns in der oben ausgesprochenen Auffassung, dass die Chromosomen durch Zusammenfließen der färbaren Substanz auf einige Hauptstrassen zustande gebracht werden.

Nicht immer verhalten sich die Chromosomen in ihrer Entwicklung so heterochron, wie die des Keimbläschens der Fig. 69. Die Fig. 70 liefert uns ein Beispiel dafür, dass unter Umständen auch die Mehrzahl der Elemente zu gleicher Zeit in dem Zustand langer dünner und sich mehrmals überkreuzender Doppelfäden angetroffen werden können. Diese Tatsache beweist wohl, dass unsere oben ausgesprochene Annahme richtig ist, dass diese Form erst auf dem Wege der Verkürzung in die definitive übergeführt wird. Im einzelnen verhalten sich die Chromosomen dieses Keimbläschens verschieden; zwei davon sind auffallend kurz, jedoch nicht dicker als die anderen, so dass bei ihnen nicht eine bereits vollzogene Verkürzung, sondern eher eine von vornherein gegebene

relativ geringe Länge anzunehmen sein wird. Das eine von diesen beiden ist in seiner Mitte scharf abgeknickt. Von den langen Chromosomen sind drei ebenfalls abgeknickt und ein anderes ist bis zu dem Grad abgebogen, dass seine beiden so entstandenen Schenkel sich aneinander legen.

Bei allen Chromosomen tritt aber schliesslich am Ende der Prophase eine weitgehende Verkürzung und Verdickung auf. In diesem Stadium befinden sich die Elemente des in Fig. 71 wiedergegebenen Keimbläschens. Man erkennt, dass die Verkürzung so weit fortschreitet, dass man die Form der definitiven Chromosomen vielfach gar nicht mehr analysieren kann; es entstehen, wie auch spätere Stadien der Metaphase I zeigen, Chromatinklumpen ohne jede sichtbare Struktur. Es ist sicher, dass hier die Wirkung der Fixierung eine Rolle spielt, aber wenn man die definitiven Chromosomen von *Zoogonus* und *Fasciola hepatica* (Schellenberg [11]) mit denen von *Brachycoelium salamandrae* (v. Kemnitz [13]) vergleicht, so erscheint es ebenso sicher, dass bei unserem Objekt und bei *Fasciola hepatica* eine ungewöhnlich weitgehende Verkürzung der Chromosomen eintritt, die den Einblick in das Geschehen bei den Reifungsteilungen ungemein erschwert. Nur an drei Chromosomen der späten Prophase der Fig. 71 kann man noch eine Duplizität wahrnehmen und das eine von den dreien, welches durch seine ganze Länge eine feine Lichtung eben erkennen lässt, ist in der Mitte zu der bekannten Biskuitform eingeschnürt. Auch hier ist noch der Rest eines Nukleolus vorhanden. Die Kernmembran ist, wie ihre starke Faltung zeigt, bereits verändert, und würde sich wohl bald aufgelöst haben. Somit haben wir das Recht, dieses Stadium an den Schluss der Prophase der ersten Reifungsteilung zu stellen. Was die deutoplasmatischen Einschlüsse des Eileibes anlangt, so haben sie sich im Verlauf der Prophase nicht verändert und auch das Spermium scheint sich in der Regel während dieser Periode unverändert als Faden zu erhalten.

In alle vorgeführten Kernbilder ist der gesamte Bestand des Kernes an Chromatinfiguren eingezeichnet worden, wenn es hierbei auch öfters nötig war, mehrere Schnitte miteinander zu kombinieren. Es wurde aber immer darauf geachtet, dass die Chromosomen wenigstens in den einzelnen Schnitten vollständig enthalten waren; die Chromosomen selbst sind niemals aus mehreren, durch

das Mikrotom voneinander getrennten Teilen zusammengesetzt worden. So konnte ein Irrtum hinsichtlich der Zahl der jeweils vorhandenen Elemente mit absoluter Sicherheit ausgeschlossen werden. Betrachtet man nun die gezeigten Keimbläschen in Rücksicht auf die Anzahl der in ihnen enthaltenen Chromatinelemente, so wird man keines unter ihnen finden, bei dem es zweifelhaft wäre, dass die reduzierte Anzahl von Chromatinstücken und nicht die Normalzahl festgestellt werden kann. In dem Keimbläschen der Fig. 69 sind fünf ausgebildete, d. h. deutlich abgrenzbare Elemente zu zählen, das sechste ist im Entstehen begriffen. Wollte man annehmen, dass der stärker gefärbte Strang, von dem die zwei dünnen, sich schliesslich zu einem kurzen und deutlich längsgespaltenen Gebilde vereinigenden Fäden ihren Ausgang nehmen, noch ein weiteres Chromosom aus sich hervorgehen lässt, so würde man hier auf sieben Elemente kommen; aber dass zwölf Chromatinteile in diesem Kern enthalten sind, wird niemand behaupten wollen. Ebenso liegen diese Verhältnisse in den Eikernen der Fig. 70 und 71. Im ersteren kann man sieben Doppelfäden unterscheiden und in letzterem gleichfalls sieben definitive Chromosomen, wenn man danach trachtet, möglichst viele Elemente herauszufinden. Man kann nämlich in dem Fall der Fig. 71 von den beiden in der Mitte der Kernfigur gelegenen und als aneinanderstossende selbständige Chromosomen gezeichneten Elementen nicht mit Sicherheit sagen, ob sie sich nicht doch zu einem einheitlichen Gebilde nach der Tiefe zu vereinigen. Wir haben aber, wie hier, so auch in allen späteren Fällen grundsätzlich im Zweifelsfall immer für die höhere Zahl entschieden, weil wir immer mit der Möglichkeit rechnen mussten, in den vor der ersten Reifungsteilung gelegenen Stadien und in der ersten Reifungsteilung selbst, entsprechend den Befunden von Goldschmidt und auch den von Schellenberg bei *Fasciola hepatica* erhobenen, die nicht reduzierte Anzahl von Chromosomen zu finden. Wenn wir dann aber bei dieser Art des Vorgehens doch nicht mehr als sieben Chromosomen herausfinden konnten, dann durften wir um so sicherer von der reduzierten Anzahl sprechen.

So können wir also feststellen, dass in der Prophase der ersten Reifungsteilung die reduzierte Anzahl von Chromosomen entsteht.

Nur ein einziger Fall (Fig. 72) ist uns begegnet, der davon eine Ausnahme macht. Es handelt sich hier um eine Eizelle, die

sich in ganz ungewöhnlicher Lage, nämlich in einem distalen Abschnitte des Uterus zwischen schon ziemlich weit fortgeschrittenen Furchungsstadien befindet. Ein Ei, welches sich regelmässig entwickelt, bereitet sich alsbald nach seinem Austritt aus dem Ovarium, also im Anfangsteil des Uterusschlauches, auf die erste Reifungsteilung vor. Die anormale Lage dieses Keimbläschens lässt es also gerechtfertigt erscheinen, es als ein in der Entwicklung gehemmes zu bezeichnen. Wenn wir nun hier eine grössere Anzahl von Chromatinteilen finden, so kann das gegenüber unseren Befunden, wie wir sie oben mitgeteilt haben, nicht in Betracht kommen. Nicht einmal in dem Sinn lässt sich dieses Vorkommnis verwerten, in welchem Schellenberg solche Beobachtungen interpretiert hat. Dieser Autor nimmt ja an, dass gelegentlich neben der reduzierten auch die nicht reduzierte Anzahl von Chromosomen in der Prophase zur ersten Reifungsteilung bei seinem Objekt gefunden werden kann. Unsere eben mitgeteilte Beobachtung nötigt uns keineswegs, die Anschauung Schellenbergs auf unser Objekt zu übertragen, sondern sie besagt nur, dass in Eiern, die eine weitere Entwicklung nicht mehr erfahren, gelegentlich die Kernelemente in mehrere Stücke, vielleicht in ihre Komponenten zerfallen können; aber das ist ein pathologischer Vorgang; in dem normalen Verlauf der Entwicklung tritt, nachdem einmal die numerische Reduktion der Chromosomen vollzogen ist, nur mehr die reduzierte Anzahl derselben auf.

Ein weiterer, anscheinend nicht in die normale Entwicklungsreihe gehöriger Befund, der gleichfalls nur ein einziges Mal in dieser ausgesprochenen Form zur Beobachtung kam, ist in der Fig. 73 wiedergegeben. In diesem Keimbläschen sind die noch nicht ad maximum verkürzten Chromosomen zu einem dichten Haufen zusammengedrängt; der Kern ist in ihrer Umgebung etwas verdunkelt. Dieses Bild erinnert an Entwicklungsstadien des Keimbläschens, die bei anderen Formen, so z. B. bei *Diestramena* von Vejdovsky (12) als „Innenkerne“ beschrieben worden sind. Bei unserem Objekt dürfte eine solche Bildung jedoch nur dann zustande kommen, wenn sich der Ablauf der Prophase verzögert. Um ein Fixierungsartefakt kann es sich in dem vorliegenden Fall nicht handeln, denn die ganze Eizelle und insbesondere das Kerngerüst sind anscheinend ohne jede gröbere Veränderung der Form und Struktur und auch die einzelnen Chromosomen sind, soweit

sie sich voneinander abheben, deutlich als längsgespaltene Doppelstäbe zu erkennen.

Die Beschreibung, welche wir von der Entstehung der Chromosomen der ersten Reifungsteilung gegeben haben, hat nicht viel Ähnlichkeit mit der entsprechenden Darstellung Goldschmidts (05), die folgenden Wortlaut hat: „Der Beginn der Reifungsvorgänge macht sich dadurch bemerkbar, dass die bisher unregelmässig im achromatischen Gerüst verteilte chromatische Substanz sich an einigen Knotenpunkten des Kerngerüsts in unregelmässigen Massen zu sammeln beginnt, während der Nukleolus noch vollständig intakt ist (Fig. 8). In einem wenig vorgerückten Stadium beginnt dieser jedoch sich ebenfalls aufzulösen; seine Begrenzung wird undeutlich, und er zerfällt in kleine chromatische Partikel, die sich auf dem achromatischen Gerüst zu Strängen anordnen (Fig. 9). Das gleiche geschieht innerhalb der erwähnten chromatischen Ansammlungen, die sich ebenfalls zu Strängen ausziehen, die bereits die künftigen Chromosomen ahnen lassen, ja durch eine zweireihige Lagerung der Körnchen zum Teil schon eine Andeutung des späteren Längsspaltess zeigen. Dieser Vorgang schreitet nun weiter fort, indem sich das Chromatin zu typischen Chromosomen verdichtet, die noch ihre Zusammensetzung aus feinsten Partikeln erkennen lassen. Von Anfang an sind diese Chromosomen längsgespalten und liegen vollständig voneinander getrennt im Kernraum zerstreut. Stets treten zehn solcher längsgespaltener Chromosomen auf, wie z. B. die Fig. 10 nach einem Totalpräparat zeigt . . . Es tritt also hier nicht, wie meist, von vornherein die reduzierte Zahl in Tetradenform auf, sondern einfach die Normalzahl; Tetraden fehlen völlig. Dadurch wird von vornherein eine wohl beispielelose Einfachheit des Reduktionsvorgangs vorbereitet.“ Der prinzipiell wichtigste Unterschied zwischen unseren Befunden und denen von Goldschmidt besteht also in der Verschiedenheit der Zahlenangaben. Bei Goldschmidt findet sich als Beleg für seine Anschauung, dass die Chromosomennormalzahl in der Prophase vorliege, nur eine einzige Abbildung; sie kann unseren eingehend dargelegten Standpunkt nicht erschüttern. Die Art der Chromosomengenese ist, wie man seinen Worten und Abbildungen entnehmen kann, von Goldschmidt nicht in ihren Einzelheiten verfolgt worden; insbesondere ist ihm das Stadium der langen Doppelfäden entgangen.

Eine direkte Beteiligung des Nukleolus am Aufbau der Chromosomen müssen wir in Abrede stellen; wohl wird er während der Prophase kleiner und blasser, und oft finden sich eine oder mehrere Vakuolen in seinem Innern. Aber dass er, wie Goldschmidt angibt, zur Zeit der Chromosomenbildung zerfiele und gar seine in Körnchen verteilte Substanz zum Aufbau der Chromosomen verwendet würde, ist sicher nicht richtig.

Dass die Herausbildung der Chromosomen auch bei anderen Trematoden in Form langer Doppelfäden geschieht, beweisen die entsprechenden Figuren von Schellenberg (11) und von v. Kemnitz (13).

2. Die I. Reifungsteilung.

Die Untersuchung der Reifungsteilungen stösst bei *Zoogonus mirus* auf ungemein grosse Schwierigkeiten. Entsprechend der geringen Zahl der von einem Tier gebildeten Eier kann man überhaupt nur relativ wenige Stadien der Reifungsteilungen finden und von diesen sind die meisten wegen der weitgehenden Verklumpung des Chromatins zur Untersuchung vollständig unbrauchbar. Der Tatsache zufolge, dass diese Verklumpungen, die in der Art auftreten, wie sie das polysperme Ei der Fig. 74 zeigt, bei jeder Fixierung, auch der in bezug auf die frühen Stadien am besten gelungenen vorkommen, müssen wir annehmen, dass das Chromatin hier besonders empfindlich gegen die angewandten Reagenzien ist. Schellenberg (11) hatte bei *Fasciola hepatica* mit derselben Schwierigkeit zu kämpfen.

Das Ei des *Zoogonus mirus* eignet sich demnach durchaus nicht zu Feststellungen, welche die Reduktionsfrage betreffen. Wer das Objekt kennt, ist nicht erstaunt darüber, dass die verschiedenen Untersucher dieser Reifungsteilungen zu so widersprechenden Ergebnissen gelangt sind.

Die fragmentarische Darstellung, auf welche wir uns aus den angeführten Gründen hier beschränken müssen, und über welche auch Grégoire (09) nicht hinausgekommen ist, wird aber insofern nicht wertlos sein als sie erweisen wird, dass der Primärtypus, dessen Existenz schon mit den Beobachtungen über die frühe Oogenese in Widerspruch stehen würde, tatsächlich nicht vorkommt.

Am besten zu analysieren sind natürlich die frühesten Stadien der ersten Reifungsteilung, bei denen wie im letzten Prophasen-

stadium die Chromosomen weit voneinander entfernt liegen. Das klarste Beispiel dieser Art ist in der Fig. 75 wiedergegeben. Es handelt sich hier um das Totalpräparat einer Eizelle, welche mit spitzen Nadeln aus dem Uterus des in toto gefärbten Tieres unter der Lupe herauspräpariert wurde. Solche Zellen, die den Schädigungen der Paraffineinbettung nicht ausgesetzt waren, und die man zum Zweck eines genauen Studiums unter dem Deckgläschen hin- und herdrehen kann, eignen sich natürlich am besten zur Untersuchung. Aber man kommt auch mit dieser Methode bei unserem Objekt nicht sehr weit, denn wenn einmal bei der Fixierung eine Verklumpung des Chromatinbestandes eingetreten ist, dann ist ein Totalpräparat ebensowenig zu enträtseln, wie eine im Mikrotomschnitt gelegene Eizelle. In dem vorliegenden Ei nun sind sechs Chromatinelemente gelegen. Während sich diese in der Äquatorialzone des Eies befinden, ist der Spermakern nahe dem Hüllzellenpol gelegen und ist ausserdem noch durch die Aufhellung des ihn umgebenden Plasmas als solcher gekennzeichnet.

In dem nämlichen Stadium, wie es dieses Totalpräparat repräsentiert, befindet sich die Reifungsteilung der in den Fig. 76 und 77 abgebildeten Eier. In diesen beiden Fällen führt die Zählung der Chromosomen zu keinem ganz einwandfreien Resultat, da man bei je einem Element nicht angeben kann, ob es einheitlich ist, oder ob zwei Chromosomen sich überlagern (Fig. 76) oder miteinander verklebt sind (Fig. 77). Aber mehr als sieben Chromosomen sind sicher nicht vorhanden.

Näher zusammengeschoben und also offenbar auf dem Wege zur Einstellung in die Äquatorialplatte sind die Chromosomen der Eizelle der Fig. 78. Hier scheinen tatsächlich sieben Chromosomen vorzuliegen.

Die sechs Elemente der Fig. 79 sind gerade in die Äquatorialebene eingerückt. Es scheint aber, dass dieses Bild noch nicht der eigentlichen Metaphase entspricht, sondern dass die Chromosomen noch näher zusammenrücken, bevor sie in die Tochterelemente zerlegt werden. Dafür lassen sich zahlreiche Bilder der ersten Reifungsteilung anführen. Sie entsprechen der Fig. 80: bis auf eines, das noch abseits liegt, sind hier alle Chromosomen dicht zusammengedrängt. Da diese Stadien keinen Aufschluss über die Anzahl und die Form der Chromatinelemente geben, ist nur eines derselben abgebildet worden.

So zeigen also sämtliche vorgeführten Metaphasenbilder der I. Reifungsteilung, dass sechs, höchstens sieben, also bivalente Chromosomen in die Äquatorialplatte eingestellt werden. Damit befinden wir uns im Gegensatz zu Goldschmidt, aber in voller Übereinstimmung mit Grégoire (09), welcher die Präparate Goldschmidts in einer unserer Darstellung völlig entsprechenden Weise auch unter Wiedergabe der ihnen gleichfalls anhaftenden Unzulänglichkeiten abbildet. Übrigens enthält auch eine Figur Goldschmidts (05), nämlich die 16. der Taf. 36, nur sieben Chromosomen.

Auch hinsichtlich der Form der Doppelemente decken sich unsere Befunde ganz mit den von Grégoire erhobenen. Auch wir haben dicke Doppelstäbe und U-förmige Elemente, sowie Ringfiguren konstatieren können, und auch die Fortsätze fehlen an einigen unserer Chromosomen nicht, die bei Grégoire anscheinend an mit Eisenhämatoxylin gefärbten Präparaten dem Ansatz der Spindelfasern entsprechen. Auch unsere Figuren machen es höchst wahrscheinlich, dass sich die Doppelemente mit ihrer Längsrichtung in die Äquatorialebene einstellen, wobei ihre beiden Schenkel in Superposition zueinander stehen.

Was die Spindelfasern und die Zentrosomen betrifft, so treten diese Bildungen bei unseren Objekten lange nicht so deutlich hervor, wie es nach den Abbildungen Goldschmidts zu erwarten gewesen wäre. Aber auch Grégoire hat sowohl die Spindelfasern als auch das Zentrosom, wenn er sie überhaupt gezeichnet hat, nur angedeutet. Das Zentrosom erscheint auch in unseren Präparaten, wenn sie stark genug mit Eisenhämatoxylin gefärbt sind, hier und da als strichförmiges Gebilde (Fig. 80): manchmal gehen die Spindelfasern von einem ansehnlichen kugelförmigen Zentrosom aus, in dem wir einmal (Fig. 75) ein Zentriol wahrzunehmen glaubten. Oft aber waren die Spindel und das Zentrosom überhaupt kaum zu sehen, so dass von ihrer Darstellung Abstand genommen wurde. Der Ansatz der Spindelfasern war niemals deutlich wahrzunehmen.

Der Spermafaden erfährt zu Beginn der Reifungsteilung Veränderungen. Anscheinend durch Konzentration, aber auch durch Aufquellung seiner Masse entsteht zunächst ein stabförmiges Gebilde (Fig. 75), dann aber ein ansehnlicher ovoider oder keulenförmiger (Fig. 76) Spermakern. In der Regel ist das Protoplasma

in seiner Umgebung aufgeheilt. Eine Strahlenfigur konnte in seiner Umgebung nie beobachtet werden. Goldschmidt bildet einmal eine solche ab. Im übrigen decken sich unsere, den Spermakern betreffenden Beobachtungen mit jenen der Voruntersucher und den entsprechenden Befunden bei *Fasciola hepatica* (Schubmann [05], Schellenberg [11]), *Brachycoelium* (v. Kemnitz [13]) und *Dicrocoelium* (Goldschmidt [08]). Auch darin stimmen wir mit den Voruntersuchern überein, dass die deutoplasmatischen Substanzen, wenn sie auch an Färbbarkeit sehr eingebüsst haben, sich bis zu den Reifungsteilungen im Ei erhalten.

3. Die II. Reifungsteilung.

Von den Stadien der II. Reifungsteilung, die zur Beobachtung gekommen sind, geben wir nur das klarste Metaphasenbild wieder (Fig. 81). Hier liegen in der Äquatorialebene des Eies sechs stabförmige Chromosomen eng beieinander. Einige von ihnen zeigen einen deutlichen Längsspalt. Der Spermakern beginnt nun, wie dies auch von den Voruntersuchern beschrieben wurde, seine Chromosomen zu entwickeln. Bei Grégoire (09) finden sich in den Fig. 25—29, Taf. II, Darstellungen der „Interkinese“ und der Metaphase und Anaphase II. Auch sie beweisen, wie das von uns beigebrachte Stadium, dass in die Äquatorialplatte die haploide Anzahl längsgespaltener Chromosomen zu liegen kommen und dass die Trennung in die Tochterelemente durch diesen Längsspalt erfolgt (Fig. 81). Gerade das Metaphasenstadium ist in unserem Fall von Bedeutung, weil man nach Goldschmidts (05, 08) Darstellung hier die Normalzahl der Chromosomen müsste feststellen können: die Elemente würden dann ungeteilt in zwei Gruppen zu den beiden Polen auseinander weichen und es wäre bei einer äquationellen ersten Reifungsteilung die zweite diejenige, welche die Reduktion nach dem Primärtypus besorgt. Dem ist aber sicher nicht so. Auch unter den Figuren, die Goldschmidt als Belege für seine Anschauung beibrachte (05, Fig. 18—24, 09, Fig. 1, 3 und 4), befindet sich kein Metaphasenstadium, bei welchem zehn oder zwölf Chromatinteile einwandfrei festzustellen wären. Goldschmidt (05) sagt: „Während sich nun die Spindelfigur zur zweiten Richtungsteilung umbildet, liegen die zehn Chromosomen nahe dem Zentrum des Eies unregelmässig durcheinander ge-

würfelt.“ In den Fig. 18, 20 und 24, auf die er sich dabei ausdrücklich bezieht, dürfte aber niemand, selbst wenn er alle vorliegenden Chromatinteile als selbständige Chromosomen rechnen wollte, mit Sicherheit zehn oder zwölf Elemente zählen können. In der Fig. 18 von Goldschmidt (05) z. B. liegen in der Spindel sieben oder acht Chromatinteile und sicher nicht zehn. Wenn man aber nach der vielfältigen, durch die Metaphasenbilder der Zellteilung immer wieder bestätigten Erfahrung die in der Fig. 18 am weitesten links gelegenen Stäbchenpaare für längsgespaltene einheitliche Chromosomen hält, wie solche von Grégoire (08) und uns in der Metaphase II tatsächlich gefunden worden sind, dann sind auch in dieser Eizelle nur fünf oder sechs Chromosomen und nicht die diploide Anzahl derselben vorhanden. Desgleichen kann man in der Fig. 23 Goldschmidts durchaus nicht mehr als sieben Chromatinteile erkennen.

So kommen wir also auch hier zu dem Schluss, dass der Primärtypus nicht existiert. Sowohl die frühe Oogenese, als auch die Prophase zur ersten Reifungsteilung, ferner die Bilder der beiden Reifungsteilungen selbst bekunden übereinstimmend, dass von einem Reduktionsmodus, wie ihn Goldschmidt hier beschrieben hat, nicht die Rede sein kann. Demgegenüber bedeutet es nichts, dass in der Literatur gelegentlich berichtet wird, es seien ausnahmsweise einmal mehr Chromosomen als es der reduzierten Anzahl entsprechen würde, in der Prophase oder Metaphase der ersten Reifungsteilung beobachtet worden (zum Beispiel Moszkowsky bei *Ascaris megalocephala bivalens*, zitiert nach Korschelt und Heider [02, S. 564], Svábénik [09] bei *Gordius tolosanus*, zitiert nach Vejdovsky [12]). Es scheint eben, wie v. Kemnitz (13) gelegentlich der Besprechung des „Primärtypus“ meint, „als ob unter bestimmten Verhältnissen Anomalien in der Chromosomensyndese auftreten, deren Ausdruck ein Verhalten gemäss dem ‚Primärtypus‘ ist“. Angesichts der wiederholt erwähnten Befunde Schellenbergs bei *Fasciola hepatica* ist ja mit der Möglichkeit zu rechnen, dass auch bei Trematoden derartige Störungen in der Eientwicklung vorkommen. So interessant solche Erscheinungen an und für sich sind, so haben sie doch keine Bedeutung für die Frage nach der Existenz des Primärtypus, der nach der Auffassung Goldschmidts als der phylogenetisch älteste Modus der Reduktion für Zoogonus

charakteristisch sein sollte, und an den sich daher als an einen vorher unbekannten „Typus“ weittragende theoretische Folgerungen knüpfen liessen. Dass dieser „Primärtypus“ bei *Zoogonus mirus* nicht existiert, das ist über jeden Zweifel sichergestellt.

b) Allgemeiner Teil.

1. Die Frage nach der Kontinuität der Chromosomen.

Sind die Chromosomen nicht nur taktische Formationen von wechselnder Zusammensetzung, die bei jedem Teilungsmanöver neugebildet werden (Fick [06]), sondern vielmehr qualitativ voneinander verschiedene Individuen, Organe des Kernes gewissermassen, deren jedes in der Geschlechtszelle eine bestimmte, für die Vererbungsvorgänge höchst wichtige Aufgabe bei der Befruchtung zu erfüllen hat, dann ist zu erwarten, dass sie in der Ruhepause zwischen zwei Mitosen und insbesondere zwischen der letzten Urgeschlechtszellenteilung und der ersten Reifungsteilung nicht völlig aufgelöst werden, wie es oft der Augenschein vermuten lässt, sondern dass sie sich wenigstens in ihrem wesentlichen Teil während des ganzen Entwicklungsganges der Geschlechtszelle erhalten. Die Chromosomenkontinuität ist zwar keine absolut notwendige Voraussetzung für die Theorie der Chromosomenindividualität, denn es wäre denkbar, dass die das Wesen des einzelnen Chromosoms bestimmenden Substanzen auch nach vorübergehender Zerstreuung im Kernraum sich wieder in immer derselben Gruppierung zusammenfinden können (Rückert [92]); aber diese Vorstellung erscheint so wenig erweisbar, dass mit dem Verzicht auf die Chromosomenkontinuität die Annahme einer Individualität des Chromosoms nichts als eine bestenfalls mit den Tatsachen nicht in Widerspruch stehende Hypothese sein könnte, während der Nachweis der Kontinuität die Individualität sehr wahrscheinlich machen müsste. Über den gegenwärtigen Stand dieser Frage hat zuletzt Lubosch (12) berichtet.

Für unseren Fall lässt sich die Frage nach der Kontinuität der Chromosomen folgendermassen formulieren: Überdauern die zuletzt in die Bukettform übergeführten bivalenten Schleifen der Oozyten die Hauptwachstumsperiode des Keimbläschens, um dann in der Prophase der ersten Reifungsteilung in ihrem Wesen unverändert wieder zu erscheinen, oder stellen die Reifungsteilungs-

Chromosomen ganz neue, mit den Bukettschleifen in keiner Beziehung stehende Chromatinverbände dar?

Tatsache ist, dass die Bukettschleifen in dem Ruhegerüst der wachsenden Oozyte verschwinden und dass während der ganzen Wachstumsperiode (Fig. 55—60) individuelle Chromosomen nicht unterschieden werden können, bis sie kurz vor der Reifungsteilung in Gestalt langer Doppelfäden wieder in Erscheinung treten. Für die Kontinuität der Chromosomen lassen sich also Beobachtungen nicht anführen. Auch ein indirekter Beweis für die Erhaltung der Chromosomen kann nicht erbracht werden, da die Doppelfäden der Prophase weder in ihrer Form noch in ihrer Grösse, noch hinsichtlich des Ortes ihrer Entstehung auf die Bukettschleifen bezogen werden können.

Andererseits muss aber hervorgehoben werden, dass das Keimbläschen während der ganzen Hauptwachstumsperiode so reich an Chromatinstrukturen ist, dass sich die den Chromosomen entsprechenden Bezirke des Liningerüsts ganz gut unter ihm nur verbergen können. Von einer „Zerstäubung“ des Kerninhaltes, wie sie z. B. von Jörgensen (10) für manche Keimbläschen des Proteus beschrieben worden ist, kann hier niemals die Rede sein, und nur solche Fälle, bei denen das Keimbläschen wirklich einen völlig strukturlosen Zustand durchmacht, können doch, falls sie auch bei Anwendung der feinsten Untersuchungsmethoden bestehen bleiben sollten, gegen die Annahme einer Chromosomenkontinuität angeführt werden. Fälle wie der unsrige sind niemals in diesem Sinne zu werten; bei ihnen gewährleistet das dauernde Erhalten bleiben des Kerngerüsts die Möglichkeit einer Chromosomenkontinuität.

Wenn aber hier ein Fortbestehen der Chromosomen gegeben ist, dann kann natürlich nur der achromatische Teil derselben dafür in Betracht kommen („Achromatinhypothese“ von Häcker, 08); denn die färbbare Substanz verlässt ganz sicher die Bukettschleifen, vermehrt sich dann entsprechend dem Kernwachstum, wobei sie über das ganze Kerngerüst in mehr oder minder dichten Ansammlungen zerstreut ist, wird schliesslich zum allergrössten Teil am Ende der Hauptwachstumsperiode aus dem Kern wieder eliminiert, bis schliesslich anscheinend der im Kern verbleibende Chromatinrest auf einzelne Hauptstrassen, welche der achromatischen Grundlage der Chromosomen nach Häckers Vorstellung entsprechen würden, wieder zusammenfliesst.

Vielleicht ist es erlaubt, diese Vorgänge mit der von Rückert (92) geschilderten Entwicklung der Chromosomen des Selachierkeimbläschens zu vergleichen. Rückert konnte zeigen, dass diese Chromosomen während der ganzen Wachstumsperiode erhalten bleiben und dabei ganz beträchtliche Veränderungen ihres Volumens erleiden. In der ersten Periode der Entwicklung, während welcher das Ei seine maximale Grösse erreicht, nehmen die Chromosomen so grosse Mengen färbbarer Substanz auf, dass sie auf das Vielfache des Ausgangsvolumens heranwachsen; während sie vorher einen Rauminhalt von 2 Kubikmikra besessen haben, erlangen sie schliesslich einen solchen von etwa 15 700 Kubikmikra. In der zweiten, von der Erlangung der Maximalgrösse bis zur Auflösung des Keimbläschens gerechneten Entwicklungsperiode verlieren die Chromosomen von der färbbaren Substanz wieder so viel, dass ihr Volumen auf etwa 3 Kubikmikra heruntergeht. Nun liegt die Vorstellung nahe, es könnte auch in unserem Fall die Aufnahme und Abgabe von Chromatin nicht, wie es zunächst scheint, unabhängig von den Chromosomen vor sich gehen, sondern möchte gleichmässig in den verschiedenen je einem Chromosom entsprechenden Bezirken des Kerngerüstes erfolgen. Man könnte sich denken, dass im Falle des Selachiereies die besondere Struktur der Chromosomen, die ja von Rückert ganz genau beschrieben worden ist („Lampen-Bürstenform“), die Möglichkeit schafft, an die vorhandenen Chromosomen das aufzunehmende Chromatin anzulagern, während in unserem Fall das Chromosomengerüst, das vielleicht als Netz von veränderlicher Maschenweite aufzufassen ist, erst entfaltet werden muss, bis es für die Einlagerung so grosser Mengen Chromatins Oberfläche und Rauminhalt genug bietet. Dann wären die Vorgänge im Prinzip nicht voneinander verschieden; immer wären es die Chromosomen, die der Aufnahme und Abgabe von Chromatin unterliegen, und die scheinbare Auflösung der Chromosomen in unserem Falle würde nur der Ausdruck einer weitgehenden Auflockerung derselben sein, welche eben bei Chromosomen, die einer geeigneten Struktur entbehren, erfolgen muss, damit sie ihrer Funktion für den Chromatinstoffwechsel nachkommen können. Derartige Vorstellungen sind sicher nichts weniger als neu, und es könnten, wenn dies nicht zu weit führen würde, ähnliche Deduktionen aus der Literatur in beträchtlicher Zahl angeführt werden; wir wollten indessen

durch die angestellte Überlegung lediglich zum Ausdruck bringen, dass wir unseren Fall nicht gegen die Annahme einer Chromosomenkontinuität verwertet wissen möchten, wenngleich wir für dieselbe keine Beweise zu erbringen vermochten.

2. Das Reduktionsproblem.

Grégoire (09) hat gefunden, dass auch die Reifungsteilungen des Zoogonus mirus dem hetero-homeotypischen Schema der Reduktion entsprechen, in welchem er den für das Pflanzen- und Tierreich allgemein gültigen, einzigen Reduktionsmodus sieht. Nach dieser Vorstellung entspricht jeder Schenkel des definitiven Chromosoms der ersten Reifungsteilung, welches als Doppelstäbchen oder in U- und V-Form oder als Achter- und Ringfigur auftreten kann, je einem ursprünglichen Chromosom. Zwei derselben haben eben durch Parallelvereinigung ein solches Doppелеlement gebildet. Da sich die definitiven Chromosomen mit der zwischen den Schenkeln befindlichen Lichtung in die Äquatorialebene der ersten Reifungsteilung einstellen, so trennt diese ganze Chromosomen voneinander, während in der zweiten Reifungsteilung jedes der zurückbleibenden Einzelchromosomen äquationell geteilt wird. Das hetero-homeotypische Schema bedeutet also einen pseudo- und präreduktionellen Modus der Reifungsteilungen. Bei blosser Betrachtung der von uns gefundenen Formen der definitiven Reifungsteilungs-Chromosomen könnte die Theorie Grégoires zunächst auch hier anwendbar erscheinen. Aber es ergibt sich sofort ein Bedenken, wenn wir uns an die Entstehung der Doppелеlemente in der frühen Oogenese erinnern. Die numerische Reduktion erfolgt ja bei Zoogonus nicht, wie Grégoire gemeint hat, durch Parasyndese, sondern auf dem Weg der Metasyndese. Unter diesen Umständen aber geht es nicht an, die parallel ge-



Fig. 42.

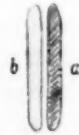


Fig. 43.

gelegerten Schenkel der Reifungsteilungs-Chromosomen ohne weiteres mit den ursprünglichen Einzelindividuen zu identifizieren. Es könnte sich ebensogut um einen durch das Doppелеlement gelegten Längsspalt handeln. Den Unterschied zwischen einer solchen Auffassung und der Grégoires veranschaulichen die nebenstehenden Textfig. 42 und 43. Es ist aber wiederholt versucht worden, die Reifungsteilungen nach dem präreduktionellen

Typus zu interpretieren, auch wenn, wie in unserem Fall, eine endweise erfolgte Vereinigung der Chromosomen angenommen werden musste. So hat v. Kemnitz (13) für *Brachycoelium salamandrae* angegeben, dass die hintereinander gekoppelten Komponenten der Doppelchromosomen durch Zusammenklappen („Faltungstheorie“ von Montgomery [03, 04, 05] und Farmer und Moore [04, 05]) schliesslich in eine parallele Lage zueinander kommen, ja sich überkreuzen. Je nachdem hierbei die Endvereinigung erhalten bleibt oder sich löst, kommen die V- und U-förmigen Elemente oder Doppelstäbe und Zopffiguren zustande. v. Kemnitz glaubt, dass die Annahme dieser Faltungstheorie den Gegensatz zwischen Parasyndese und Metasyndese aus der Welt schaffe. Wir haben zu dieser Anschauung bereits (siehe S. 88) Stellung genommen. Die Faltung der Chromosomen wird aber nach v. Kemnitz durch das Bukettstadium herbeigeführt; darin liegt seiner Ansicht nach die Bedeutung des Bukettstadiums.

Wenn die Theorie der Chromosomenfaltung den Tatsachen entsprechen würde, dann liesse sich das hetero-homeotypische Reduktionsschema auch auf einen Fall wie den unserigen anwenden. Der Entwicklungsgang der definitiven Chromosomen kann allein hierüber entscheiden.

Wir haben gesehen, dass in der Prophase zur ersten Reifungsteilung lange Doppelfäden entstehen, die in ihrer Form den Bukettschleifen durchaus nicht gleichen. Sie sind gerade so wie bei *Fasciola hepatica* und *Brachycoelium salamandrae* zur Zeit ihrer Entstehung gerade gestreckt oder doch nur schwach gebogen. Wer die Anschauung vertritt, dass in der frühen Oogenese eine Parallelkonjugation stattgefunden hat, wird jedem der beiden Fäden den Wert eines ursprünglichen Chromosoms beilegen¹⁾; für uns aber, die wir die metasyndetische Entstehung der Doppelchromosomen hier für erwiesen halten, kann die Lichtung der frühen Prophasen-Elemente nur einen Längsspalt im Sinne der gewöhnlichen Prophase bedeuten.²⁾ Wir stellen uns vor, dass in dem

¹⁾ Die früher (S. 54) erwähnte Annahme einer Parasyndese mit Mixochromosomenbildung bedingt natürlich eine andere Bewertung; dies kann aber hier ausser Betracht bleiben.

²⁾ Die weitere Möglichkeit, dass je ein Faden einem Schenkel der Bukettschleife entsprechen würde, kann nicht ernstlich in Betracht gezogen werden und wir können auch nicht glauben, dass v. Kemnitz den Zusammenhang zwischen der Abbiegung der Bukettschleifen und der Faltung

Keimbläschen ein Kern gegeben ist, welcher statt der diploiden Chromosomenzahl nunmehr die haploide Anzahl von Elementen in der Prophase der I. Reifungsteilung herausbildet und dass der Weg, auf dem dies geschieht, nicht im geringsten von dem bei der gewöhnlichen Mitose befolgten abweicht; dabei ist es interessant zu beobachten, dass der Längsspalt der Chromosomen gelegentlich gleich bei ihrer Entstehung hervortreten kann, d. h., dass die Chromosomenhälften als selbständige, zunächst relativ weit voneinander entfernte Fäden angelegt werden können (Fig. 69). Das beweist, wie recht Meves (08, S. 618) hat, wenn er bei seinen gegen die Parallelkonjugation gerichteten Auseinandersetzungen betont, dass es ganz belanglos ist, ob die Chromosomen in der Prophase zunächst nur als Doppelreihen von Chromatinkörnchen erscheinen oder ob sogleich eine weitgehende Selbständigkeit der Schwesterfäden eintritt, „so dass von vornherein wirkliche Fadenpaare vorhanden sind“.

Das Prophasen-Chromosom kann also zunächst keinen anderen Bau haben als den durch die Formel $\frac{a \cdot a}{b \cdot b}$ ausgedrückten. Wenn eine Faltung eintritt, dann kann sie erst nach der Herausdifferenzierung der Doppelfäden erfolgen. Dieser Umstand scheint uns aber die Anschauung v. Kemnitz's, dass die Faltung eine Funktion des Buketts sei, hinfällig zu machen. Wäre dem wirklich so, dann müssten die Chromosomen der Prophase doch bereits „gefaltet“ in Erscheinung treten (dass man die Duplizität der Fäden nicht für den Ausdruck einer vollzogenen Faltung betrachten kann, wurde schon bemerkt — siehe die Anmerkung auf S. 131). Nun handelt es sich also darum, ob die beobachteten Bilder Anhaltspunkte ergeben, aus denen wir eine Faltung zu erschliessen berechtigt wären. Wir müssen sagen, dass das nicht der Fall ist. Nur ein einziger Doppelfaden in Fig. 70 erscheint wirklich gefaltet. Die anderen haben einen mehrfach gebogenen Verlauf; zwei von den langen Doppelfäden sind sogar deutlich gekrümmt und eines der beiden kurzen Doppellemente ist in der Mitte scharf abgeknickt, aber ob diese Formen bloss zufällige Er-

der definitiven Chromosomen so verstanden wissen möchte, denn in vielen Fällen und auch bei einzelnen Elementen von *Brachycoelium* sieht man schon an den Bukettschleifen eine deutliche Längsrichtung; wenn daher die Prophasen-Chromosomen überhaupt auf jene bezogen werden dürfen, was die Annahme einer Kontinuität der Chromosomen zur Voraussetzung hat, dann tritt eben der Längsspalt der Bukettschleifen in der Prophase wieder hervor.

scheinungen oder, wie es die Annahme der Faltung postulieren muss, der Ausdruck für einen gesetzmässigen Vorgang sind, das muss dahingestellt bleiben. Von den Elementen des in Fig. 69 wiedergegebenen Keimbläschens ist ein langer Doppelfaden hakenförmig gekrümmt. Von den beiden kurzen Elementen kommt zum mindesten das eine der definitiven Form bereits sehr nahe. Es besteht aus zwei relativ dicken sich überkreuzenden Stäben und stellt ganz und gar das kleinere und plumpere Abbild eines langen Doppelfadens dar. Von einer Faltung ist weder bei ihm noch bei dem anderen kurzen Element irgend etwas zu sehen; sie haben beide einen ganz geraden Verlauf. Zu der Annahme aber, dass sich ein langer Doppelfaden umgebogen hätte bis zur Parallellagerung seiner beiden Schenkel, dass die Duplizität sich dabei verloren hätte und eine Dehiszenz an der Abbiegungsstelle aufgetreten wäre, so dass also die in Rede stehenden kurzen Elemente bereits als das Resultat der Faltung betrachtet werden müssten — zu dieser Annahme liegt auch nicht die geringste Berechtigung vor. Freilich bemerken wir manchmal, dass wie in Fig. 66 die Anlage eines Chromosoms V-förmig gekrümmt ist; aber diese und ähnliche Beobachtungen in den späteren Prophasenstadien müssten doch mit Regelmässigkeit erhoben werden können, wenn die Faltung wirklich die Grundlage für das Zustandekommen der qualitativen Chromosomenreduktion wäre. Unsere Bilder lassen höchstens erkennen, dass ein oder das andere Element eine Faltung erfahren kann, aber für die Faltung als typischen Entwicklungsprozess der Chromosomen spricht gar nichts. v. KERNITZ (13), der sich so entschieden auf den Standpunkt der Faltungstheorie stellt, geht auf die Schwierigkeiten, die dem Nachweis der sich vollziehenden Faltung entgegenstehen, nicht ein. Seiner Meinung nach spricht vor allem die U- und V-Form der definitiven Chromosomen für eine stattgehabte Faltung und es ist richtig, dass diese Form durch die fragliche Annahme eine befriedigende Erklärung finden würde. Aber man darf nicht vergessen, dass BONNEVIE (99) ebensolche V-Formen bei den Furchungsmitosen von *Nereis limbata* beobachtet hat und ein endweise stattfindendes Verkleben der beiden Längshälften eines Metaphasenchromosoms also sehr wohl vorkommen kann.

So kommen wir zu dem Schluss, dass man nicht entscheiden kann, ob die Längslichtung der definitiven Chromosomen einen

Spalt zwischen zwei ursprünglich selbständigen Elementen darstellt, welche Vorstellung eben die „Faltung“ zur Voraussetzung hätte, oder ob sie der Duplizität der frühen Prophasen-Doppel-fäden und also dem Metaphasenspalt der somatischen Mitose entspricht.

Damit ist gesagt, dass wir uns nicht für berechtigt halten, das hetero-homeotypische Reduktionsschema auf die Reifungsteilungen des *Zoogonus mirus* zu übertragen. Wenn es auch nicht geradezu unmöglich ist, dass es hier Geltung hat, so sind wir doch nicht in der Lage, irgend einen Beweis für seine Geltung beizubringen. So lässt sich also der reduktionelle Charakter der ersten Reifungsteilung nicht wahrscheinlich machen. Was aber die zweite Reifungsteilung betrifft, so erweisen unsere eigenen Beobachtungen (Fig. 81) wie auch die Grégoires (09), dass hier die Chromosomen durch einen deutlichen Längsspalt in die Tochterelemente zerlegt werden. Die zweite Reifungsteilung kann demnach nur äquationell sein. Es ergibt sich also, dass wir bei *Zoogonus*, welcher nach Goldschmidts Anschauung einen beispieldes klaren Reduktionsmodus besitzen sollte, die Frage nach dem Vorkommen einer echten Weismannschen Chromosomenreduktion offen lassen müssen, wenn wir die vorgefundenen Teilungsstadien nicht einer bestimmten theoretischen Vorstellung anpassen wollen.

Literaturverzeichnis.

- Athias, M., 1912: Sur les divisions de Maturation de l'oeuf des Mammifères. Archivos do Instituto Bacteriologico Camara Pestana, T. III, Fasc. III, Lisboa.
- v. Baehr, W. B., 1909: Die Oogenese bei einigen viviparen Aphididen und die Spermatogenese von *Aphis saliceti* usw. Arch. f. Zellforsch., Bd. 3.
- Bonnevie, K., 1908: Chromosomenstudien I. Arch. f. Zellforsch., Bd. 1.
- Dieselbe, 1908b: Chromosomenstudien II usw. Arch. f. Zellforsch., Bd. 2.
- Dieselbe, 1911: Chromosomenstudien III. Arch. f. Zellforsch., Bd. 8.
- Boveri, Th., 1904: Ergebnisse über die Konstitution der chromatischen Substanz des Zellkerns. Jena. Verlag von Gustav Fischer.
- Buchner, P., 1909: Das accessorische Chromosom in Spermatogenese und Oogenese der Orthopteren, zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Reduktion. Arch. f. Zellforsch., Bd. III, H. 3.
- Digby, L., 1910: The Somatic, Premeiotic, and Meiotic Nuclear Divisions of *Galtonia candicans* Annals of Botany, V. 24.
- Duesberg, J., 1912: Plastosomen, „Apparato Reticolare Interno“, und Chromidialapparat. Ergebn. d. Anat. u. Entwicklungsgesch., Bd. 20.
- Erdmann, R. h., 1911: Quantitative Analyse der Zellbestandteile bei normalem, experimentell verändertem und pathologischem Wachstum. Ergebn. d. Anat. u. Entwicklungsgesch., Bd. 20, II. Hälfte.
- Farmer, J. B. and Moore, I. E. S., 1903: New investigations into the reduction phenomena of animals and plants. Proc. Roy. Soc. London, Vol. 72.
- Dieselben, 1904: On the maiotic phase (reduction division) in animals and plants. Quart. Journ. microsc. Science, Vol. 48.
- Fick, R., 1893: Über die Reifung und Befruchtung des Axolotleies. Zeitschrift f. wissensch. Zool., Bd. 56.
- Derselbe, 1906: Vererbungsfragen, Reduktions- und Chromosomenhypothesen und Bastardregeln. Merkel und Bonnets Ergebn. f. Anat. u. Entwicklungsgesch., Bd. 16.
- Derselbe, 1908: Zur Konjugation der Chromosomen. Arch. f. Zellforsch., Bd. 1.
- Godlewski, jun., E., 1908: Plasma und Kernsubstanz in der normalen und der durch äussere Faktoren veränderten Entwicklung der Echiniden. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 26.
- Goldschmidt, R., 1902: Untersuchungen über die Eireifung, Befruchtung und Zellteilung bei *Polystomum integerrimum* Rud. Zeitschr. f. wissensch. Zoologie, Bd. 71.
- Derselbe, 1902b: Über Bau und Embryonalentwicklung von *Zoogonus mirus* Lss. Zentralblatt f. Bakteriologie und Parasitenkunde, Bd. 32, 1902, I. Abt., S. 870.
- Derselbe, 1905: Eireifung, Befruchtung und Embryonalentwicklung des *Zoogonus mirus* Lss. und der Primärtypus der Reduktion. Zoolog. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ontog. d. Tiere, Bd. 21.

- Goldschmidt, R., 1908: Über das Verhalten des Chromatins bei der Eireifung und Befruchtung des *Dicrocoelium lanceolatum*. Arch. für Zellforsch., Bd. I, 1908.
- Derselbe, 1908b: Ist eine parallele Chromosomenkonjugation bewiesen? Arch. f. Zellforsch., Bd. I, 1908.
- Derselbe, 1909: Die Chromatinreifung der Geschlechtszellen des *Zoogonus mirus* und der Primärtypus der Reduktion. Arch. f. Zellforsch., Bd. II, 1909.
- Grégoire, V., 1905: Les cinèses de maturation dans les deux règnes I. La Cellule, Bd. 22.
- Grégoire, V. und Deton, W., 1906: Contribution à l'étude de la spermatogénèse dans l'Ophryotrocha puerilis. La Cellule, Bd. 23.
- Grégoire, V., 1909: La réduction dans le *Zoogonus mirus* Lss. et le „Primärtypus“. La Cellule, T. 25.
- Derselbe, 1910: Les cinèses de maturation dans les deux règnes II. La Cellule, T. 26.
- Gross, J., 1904: Die Spermatogenese von *Syromastes marginatus* L. Zool. Jahrb. Anat., Bd. 20.
- Häcker, V., 1893: Das Keimbläschen, seine Elemente und Lageveränderungen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 41.
- Derselbe, 1909: Die Chromosomen als angenommene Vererbungsträger. Ergebn. u. Fortschr. der Zool. von Spengel, Bd. 1.
- Hertwig, R., 1903: Über Korrelation von Zell- und Kerngrösse und ihre Bedeutung für die geschlechtliche Differenzierung und die Teilung der Zelle. Biol. Zentralbl., Bd. 23.
- Derselbe, 1903b: Über die Einwirkung äusserer Einflüsse auf die Lebensvorgänge der Infusorien. Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. in München, Bd. 18.
- Jürgensen, M., 1910: Zur Entwicklungsgeschichte des Eierstockeies von *Proteus anguineus*. Festschr. zum 60. Geburtstag R. Hertwigs, Bd. 1, Jena, Fischer.
- v. Kemnitz, G., 1912: Die Morphologie des Stoffwechsels bei *Ascaris lumbricoides* usw. Arch. f. Zellforsch., Bd. 7.
- Derselbe, 1913: Eibildung, Eireifung, Samenreifung und Befruchtung von *Brachycoelium salamandrae* (*Brachycoelium crassicolle* Rud.). Arch. f. Zellforsch., Bd. 10.
- Korschelt, E., 1895: Über Kernteilung, Eireifung und Befruchtung bei *Ophryotrocha puerilis*. Zeitschr. f. wissenschaftl. Zool., Bd. 60.
- Korschelt, E. und Heider, K., 1902: Lehrbuch der vergleichenden Entwicklungsgeschichte der wirbellosen Tiere. 1. und 2. Abt., Jena.
- Kühn, A., 1908: Die Entwicklung der Keimzellen in den parthenogenetischen Generationen der Cladoceren usw. Arch. f. Zellforsch., Bd. 1.
- Lerat, P., 1905: Les phénomènes de Maturation dans l'ovogénèse et la spermatogénèse du *Cyclops strenuus*. La Cellule, T. 22.
- Loos, A., 1901: Über einige Distomen der Labriden des Triester Hafens. Zentralbl. f. Bakteriologie und Parasitenkunde. Bd. 29, I. Abt., S. 437.

- Lubosch, W., 1902: Über die Eireifung der Metazoen, insbesondere über die Rolle der Nukleolarsubstanz und die Erscheinungen der Dotterbildung. *Ergebn. d. Anat. u. Entwicklungsgesch.*, Bd. 11.
- Derselbe, 1912: Über den gegenwärtigen Stand der Lehre von der Eireifung. Referat. Verhandl. d. Anat. Ges. auf der 26. Vers. in München. *Ergänzungsheft zum Anat. Anz.*, Bd. 41.
- Lundegårdh, H., 1910: Über Kernteilungen in den Wurzelspitzen von *Allium cepa* und *Vicia faba*. Sonderabdruck aus *Svensk. Bot. Tidskrift*, Bd. 4, H. 3.
- Derselbe, 1913: Das Karyotin im Ruhekern und sein Verhalten bei der Bildung und Auflösung der Chromosomen. *Arch. f. Zellforsch.*, Bd. 9, H. 2.
- Maréchal, J. et de Saedeleer, 1910: Le premier développement de l'ovocyte I chez les Rajides. *La Cellule*, T. 26.
- Meves, F., 1907: Die Spermatozytenteilungen bei der Honigbiene (*Apis mellifica* L.) nebst Bemerkungen über die Chromatinreduktion. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. 70.
- Derselbe, 1908: Es gibt keine parallele Konjugation der Chromosomen. *Arch. f. Zellforsch.*, Bd. 1.
- Derselbe, 1910: Über Strukturen in den Zellen des embryonalen Stützgewebes, sowie über die Entstehung der Bindegewebsfibrillen, insbesondere derjenigen der Sehne. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. 75.
- van Mollé, J., 1907: Les spermatocytes dans l'écureuil. *La Cellule*, T. 24.
- Montgomery, Th., 1903: The Heterotypic Maturation Mitosis in Amphibia and its general significance. *Biol. Bull.*, Vol. 4.
- Derselbe, 1904: Some observations and considerations upon the Maturation phenomena of the germ-cells. *Biol. Bull.*, Vol. 6.
- Derselbe, 1905: The spermatogenesis of *Syrbula* and *Lycose* etc. *Proc. of the Acad. of Sciences, Philad.*, Vol. 57.
- Moreff, Th., 1910: Oogenetische Studien. I. Copepoden. *Arch. f. Zellforschung*, Bd. 2, H. 3.
- Nemec, B., 1910: Das Problem der Befruchtungsvorgänge und andere zytologische Fragen. Berlin.
- Öttinger, R., 1909: Zur Kenntnis der Spermatogenese bei den Myriapoden etc. *Arch. f. Zellforsch.*, Bd. 3.
- Paulmier, F., 1899: The spermatogenesis of *Anasia tristis*. *Journal of Morph.*, T. 15, Suppl.
- Popoff, M., 1907: Eibildung bei *Paludina vivipara* und Chromidien bei *Paludina* und *Helix*. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. 70.
- vom Rath, O., 1892: Zur Kenntnis der Spermatogenese von *Gryllotalpa vulgaris* Latr. *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. 40.
- Rückert, J., 1892: Zur Entwicklung des Ovarialeies bei Selachiern. *Anat. Anz.*, Bd. 7.
- Derselbe, 1894: Zur Eireifung bei Copepoden. *Anat. Hefte*, I. Abt.
- Schaxel, J., 1910: Die Eibildung der Meduse *Pelagia notiluca* usw. Festschrift zum 60. Geburtstag R. Hertwigs. Jena. G. Fischer.

- Schellenberg, A., 1911: Ovogenese, Eireifung und Befruchtung von *Fasciola hepatica* L. Arch. f. Zellforsch., Bd. 6.
- Schreiner, A. und K. E., 1908: Neue Studien über die Chromatinreifung der Geschlechtszellen. V. Die Reifung der Geschlechtszellen von *Zoogonus mirus* Lss. Vidensk.-Selsk. Skrifter I. Math.-Naturw. Kl., Nr. 8.
- Dieselben, 1908b: Gibt es eine parallele Konjugation der Chromosomen? Erwiderung an die Herren Fick, Goldschmidt und Meves. Vidensk.-Selsk. Skrifter I. Math.-Naturw. Kl., Nr. 4.
- Schubmann, W., 1905: Über die Eibildung und Embryonalentwicklung von *Fasciola hepatica* L. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat., Bd. 21.
- v. Schustow, L., 1913: Über Kernteilungen in der Wurzelspitze von *Allium cepa*. Anat. Anz., Bd. 43.
- Skrobansky, K., 1903: Beiträge zur Kenntnis der Ovogenese bei Säugetieren. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 62.
- Sobotta, J., 1895: Die Reifung und Befruchtung des Eies der Maus. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 45.
- Stevens, N. M., 1905: Further Studies on the ovogenesis of *Sagitta*. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. u. Ontog., Bd. 21.
- Strasburger, E., 1904: Die Apogamie der Eualchimillen und allgemeine Gesichtspunkte, die sich aus ihr ergeben. Jahrb. f. wissenschaft. Botanik, Bd. 41.
- Vejdovsky, F., 1912: Zum Problem der Vererbungsträger. Prag. Verl. der k. böhm. Ges. d. Wissensch.
- Wassermann, F., 1911: Über die Eireifung bei *Zoogonus mirus* Lss. Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morph. u. Phys., München.
- Derselbe, 1912: Zur Eireifung von *Zoogonus mirus*, ein Beitrag zur Synapsisfrage. Verh. d. Anat. Ges., 26. Vers. in München.
- Wilke, G., 1907: Die Spermatogenese von *Hydrometra lacustris* L. Jenaische Zeitschr. f. Naturw., Bd. 42.
- v. Winiwarter, H., 1900: Recherches sur l'ovogénèse et l'organogénèse de l'ovaire des Mammifères (Lapin et Homme). Arch. Biol., Vol. 17.
- v. Winiwarter et Sainmont, 1909: Nouvelles Recherches sur l'ovogénèse et l'organogénèse de l'ovaire des Mammifères (chat.).
- Zacharias, O., 1912: Zur Cytologie des Eies von *Ascaris megalocephala*. Anat. Anz., Bd. 42, Nr. 15.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel I—IV.

Sämtliche Figuren wurden mit Zeiss Apochromat 1,5 mm n. A. 1,3 und Komp.-Ok. 8 mit Hilfe des Abbeschen Zeichenapparates bei Projektion auf Arbeitstischhöhe entworfen.

- Fig. 1. Polansicht der Äquatorialplatte einer somatischen Mitose, 12 Chromosomen.
- Fig. 2. Äquatorialplatte einer Embryonalzellenmitose, 12 Chromosomen.
- Fig. 3. Metaphase einer Embryonalzellenmitose, 12 Chromosomen.
- Fig. 4. Prophase einer Embryonalzellenmitose, 12 Chromatinschleifen.
- Fig. 5. Äquatorialplatte einer Embryonalzellenmitose, 11 Chromosomen.
- Fig. 6. Metaphase einer Embryonalzellenmitose, 13 Chromosomen.
- Fig. 7, 8, 9. Äquatorialplatten von Embryonalzellenmitosen, 14 (?) Chromosomen.
- Fig. 10. Äquatorialplatte einer Embryonalzellenmitose, 14 Chromosomen.
- Fig. 11. Übersichtsbild eines Schnittes durch das Ovarium des *Zoogonus*.
1. Oogonienruhekerne, 2. Oocyte der ersten Entwicklungsperiode, 3. Oocyten der zweiten Entwicklungsperiode, 4. aus dem Ovarium austretende Eizelle, 5. deutoplasmatische Einschlüsse.
- Fig. 12. Oogonienruhekerne.
- Fig. 13, 14. Prophasen von Oogonienmitosen.
- Fig. 15, 16. Metaphasen von Oogonienmitosen.
- Fig. 17. Telophase einer Oogonienmitose.
- Fig. 18. Jüngster Oocytenkern.
- Fig. 19, 20. Oocytenkerne mit einzelnen chromatischen Ansammlungen im Kernnetz.
- Fig. 21, 22. Oocytenkerne, Herausdifferenzierung der Chromosomen.
- Fig. 23—29. Oocytenkerne mit der Normalzahl der Chromosomen. Die Figuren illustrieren den Prozess der Chromosomenverkettung.
- Fig. 30. Kontinuierlicher Knäuel mit primären Querkerben.
- Fig. 31. Kontinuierlicher Knäuel, einseitig zusammengeschoben.
- Fig. 32. Kontinuierlicher Knäuel, durch sekundäre Kerben in sechs hintereinandergelegene Segmente abgeteilt.
- Fig. 33—37. Fortschreitende Segmentierungen des Knäuels.
- Fig. 38, 39. Polare Orientierung der Knäuelsegmente.
- Fig. 40—44a. Bukettstadien in der Profilsicht.
- Fig. 44b. Grösster Durchmesser eines Oocytenkerns am Anfang der Hauptwachstumsperiode aus demselben Ovarium wie das Bukett der Fig. 44.
- Fig. 45. Bukettstadium vom Schleifenpol aus gesehen.
- Fig. 46. Auflösung der Bukettschleifen bei noch bestehender polarer Orientierung.
- Fig. 46a. Grösster Durchmesser eines Oocytenkerns aus der Hauptwachstumsperiode, welcher demselben Ovarium wie das Bukett der Fig. 46 angehört.

- Fig. 46 b. Grösster Durchmesser eines Oozytenkerns aus der Hauptwachstumsperiode, welcher demselben Ovarium angehört wie die Knäuelsegmentierungsstadien der Fig. 33 und 34.
- Fig. 47. Oozytenkern: die Bukettschleifen sind bis auf eine einzige, welche sich noch in polarer Orientierung befindet, aufgelöst.
- Fig. 48—54. Oozytenkerne. Beispiele für das gelegentliche Vorkommen von synapsisähnlichen Bildern in einzelnen Ovarien des *Zoogonus*.
- Fig. 55—60. Oozyten der Hauptwachstumsperiode. D. = Deutoplasmatische Einschlüsse. Die Fig. 59 ist nach einem mit der Benda'schen Methode gefärbten Präparat, die übrigen nach mit Eisenhämatoxylin behandelten Präparaten gezeichnet.
- Fig. 61. A. = Oocyte am Ende der Hauptwachstumsperiode, B. = eine das Ovarium verlassende Eizelle.
- Fig. 62. Aus dem Ovarium austretende Oocyte in der Höhe der den Kern komprimierenden Vakuole getroffen.
- Fig. 63. Aufsicht auf eine das Ovarium verlassende Eizelle, plastisch gezeichnet.
- Fig. 64. Querschnitt durch eine solche Zelle.
- Fig. 65. Ei im Anfangsteil des Uterus. H. = Hüllzellen, D. = Deutoplasmatische Einschlüsse, S. = Spermafaden.
- Fig. 66—70. Stadien der Herausdifferenzierung der Chromosomen in der Prophase der ersten Reifungsteilung. A. = Hüllzellen, D. = Deutoplasmatische Einschlüsse, S. = Spermafaden.
- Fig. 71. Prophase der ersten Reifungsteilung mit der reduzierten Anzahl von definitiven Chromosomen. H. = Hüllzellen, D. = Deutoplasmatische Einschlüsse.
- Fig. 72. Pathologische Prophase der ersten Reifungsteilung mit einer grösseren Anzahl von Chromatinteilen als der reduzierten.
- Fig. 73. Bildung eines „Innenkernes“ während der Prophase der ersten Reifungsteilung bei verzögertem Ablauf derselben.
- Fig. 74. Polyspermes Ei, Metaphase der ersten Reifungsteilung. S. = Spermafäden.
- Fig. 75. Totalpräparat der ersten Reifungsteilung, 6 Chromosomen. S. = Spermakern, C. = Centrosom, H. = Hüllzellen.
- Fig. 76—80. Erste Reifungsteilung, 6—7 Chromosomen. H. = Hüllzellen, D. = Deutoplasmatische Einschlüsse, S. = Spermakern.
- Fig. 81. Metaphase der zweiten Reifungsteilung, 6 Chromosomen. S. = Spermakern, seine Chromosomen entwickelnd, C. = Centrosom, H. = Hüllzellen, R. = Richtungskörper.

Die Entwicklung von Forelleneiern nach Befruchtung mit radiumbestrahlten Samenfäden.

Von
Karl Oppermann.

Hierzu Tafel V—VII und 10 Textfiguren.

Unter den zahlreichen biologischen Experimenten der letzten Jahre, die dazu dienen sollen, neue Einblicke in das Problem der Vererbung zu gewähren, haben die von O. Hertwig im Jahre 1909 begonnenen Radiumversuche eine besondere Bedeutung. Bisher sind eine grössere Reihe von Arbeiten dieses Autors (1909, 1910, 1911, 1912), wie auch von Günther Hertwig (1911, 1912, 1913) und Paula Hertwig (1911) erschienen. Experimentell ist allen diesen Untersuchungen gemeinsam, dass Keimzellen, Eier oder Samenfäden oder ganz junge, embryonale Entwicklungsstadien in verschiedensten Stärkegraden den Radiumstrahlen ausgesetzt werden. Die Wirkungen dieser Behandlung machen sich in mannigfachster Weise bemerkbar. Es wird im Laufe der Darstellung häufig auf die Ergebnisse der Arbeiten O. und G. Hertwigs Bezug zu nehmen sein, so dass an dieser Stelle auf eine spezielle Ausführung verzichtet werden kann.

Die grösste Reihe von Versuchen wurde an den Keimen des Frosches, *Rana fusca*, von O. und G. Hertwig ausgeführt; ferner bestrahlte G. Hertwig (1911) Samenfäden des Seeigels und untersuchte die ersten Furchungsstadien genauer. Von P. Hertwig wurden die Ergebnisse der Bestrahlungsversuche, die an Eiern von *Ascaris megalocephala* vorgenommen wurden, beschrieben.

Zur weiteren Bestätigung der interessanten Ergebnisse und der an diese geknüpften theoretischen Erörterungen schien es geboten, Vertreter anderer Tiergruppen zu ergänzenden Untersuchungen heranzuziehen. Es wurden die Keime der Bachforelle, *Salmo fario*, gewählt. Ein wesentlich verschiedenes Objekt stellt das Fischei insofern dar, als es sich hier um einen ganz anderen Typus handelt, als ihn die Amphibien zeigen. Bekanntlich haben die Teleostier meroblastische Eier.

Material und Methode.

Gegen Ende der Monate November und Dezember 1911 erhielt ich von der Forellenzuchtanstalt von C. Arens Nachfg., Cleysingen bei Ellrich a. H., je drei Paar laichreifer Forellen. Die Fische waren in bestem, brauchbarem Zustande, so dass für alle Versuche reichliches, frisches, ganz einwandfreies Material vorhanden war.

O. und G. Hertwig haben ihre Experimente in vier verschiedenen Versuchsanordnungen vorgenommen.

In der ersten Serie wurden befruchtete Froscheier auf dem Zweizellenstadium mit Radium bestrahlt (A-Serie). Dann nur Samenfäden, mit denen normale Eier befruchtet wurden (B-Serie). Dagegen wurden in der C-Serie Eier bestrahlt und dann mit normalem Sperma besamt. Die letzte Serie (D-Serie) umfasste diejenigen Versuche, in denen Samen und Eier vor ihrer Verbindung miteinander bestrahlt wurden.

In den Forellenversuchen wurden lediglich die Samenfäden bestrahlt, also entsprechend der B-Serie Hertwigs. Die nicht unbeträchtliche Grösse der Eier und eine fehlende Differenzierung im vegetativen und animalen Pol macht diese zu weiteren Experimenten wenig geeignet.

Zur Bestrahlung des Samens standen mir zwei Radium- und ein Mesothoriumpräparat zur Verfügung. Die Radiumpräparate waren die gleichen, die schon O. und G. Hertwig zu den entsprechenden Versuchen beim Frosch benutzten. Es soll die von ihnen angewendete Benennung beibehalten werden. Radium I: 7,5 mg, Radium II: 5,3 mg. Das Mesothoriumpräparat, in der Darstellung mit Mth bezeichnet, entsprach der Wirkung von 55 mg Radiumbromid.

Es wurden zwei Reihen von Versuchen ausgeführt. Einmal vom 1. bis 5. Dezember (18 Versuche) und dann vom 28. bis 31. Dezember (21 Versuche). Die zweite Serie enthielt eine Wiederholung fast aller Experimente der ersten, nur wenige andere Bestrahlungszeiten wurden hinzugefügt. Gänzlich neu waren die Bestrahlungen mit Mesothorium. Die erste Serie betrachtete ich lediglich als Vorversuch, um mich mit dem Objekt vertraut zu machen. Die zweite Versuchsreihe lieferte ein derartig reiches Material, dass es überflüssig erschien, in der folgenden Darstellung auf die Ergebnisse der ersteren Rücksicht zu nehmen.

In den wesentlichen Resultaten stimmen beide Versuchsserien völlig überein.

Zu jeder Bestrahlung wurde frisch abgestrichener Samen verwendet; zwei bis drei kleine Tröpfchen davon wurden auf einen hohlgeschliffenen Objektträger gebracht. Auf einem 4 mm hohen Glasring lag, die Strahlungsöffnung dem Samen zugewendet, das radioaktive Präparat. Stets wurden Kontrollbefruchtungen mit normalem Samen ausgeführt. Um ein Eintrocknen zu verhüten, wurde der Samen in feuchter Kammer aufgehoben. Die Versuchsanordnung ist die gleiche, wie sie auch von O. Hertwig angewandt wurde.

In der ersten Versuchsserie versagten in einigen Fällen die Befruchtungen völlig, in anderen kam nur ein sehr geringer Teil der besamten Eier zur Entwicklung. Dieser negative Ausfall machte es erforderlich, auf die Besamungsmethode grösste Sorgfalt zu verwenden. Bekanntlich beträgt die Dauer der Bewegungsfähigkeit der Forellenspermien nicht mehr als 30—40 Sekunden. Im unverdünnten Zustande unbeweglich, beginnt nach Zusatz einer passenden Flüssigkeit tumultartig die Bewegung, um eben nach dieser kurzen Zeit völlig zu erlöschen. Schon bei normalem Samen, der 24 Stunden steht, scheinen die Spermien durch gewöhnliches Leitungswasser nicht mehr allgemein zu so intensiver Bewegung, wie es bei ganz frischen Samenfäden der Fall ist, angeregt werden zu können. Bedeutend günstiger wirkt ein Zusatz von der weiblichen Leibeshöhlenflüssigkeit, die beim Abstreichen der Eier mit austritt. Die gleiche günstige Wirkung dieser Flüssigkeit konnte auch für das Ergebnis der Befruchtungen beobachtet werden. In allen Fällen, in denen während der Besamung von Eiern mit bestrahlten Spermien ein geringer Zusatz von Leitungswasser oder schwacher Kochsalzlösung gemacht wurde, war die Zahl der zur Entwicklung gekommenen Eier häufig nur sehr gering.

Trotzdem nur eine äusserst geringe Menge des Radiumsamens für eine Befruchtung von jedesmal 30—40 Eiern vorhanden war, so konnten mit Hilfe der eben angeführten Methode fast alle Eier zur Entwicklung angeregt werden, falls nicht, wie in der späteren Darlegung gezeigt werden soll, das Experiment an sich eine Ausnahme bedingte. Von den 18 Versuchen ist nur einer ergebnislos verlaufen; aber auch in diesem Falle nur darum,

weil zur Befruchtung Eier benutzt wurden, die schon 2 Stunden gestanden hatten und etwas trocken geworden waren. Der Versuch wurde aber, schon ehe der negative Verlauf erkannt werden konnte, wiederholt und hatte dann den gewünschten Erfolg. Bei Kontrollbefruchtungen, für die viel Samen zur Verfügung stand, war es natürlich nicht so notwendig, auf das Vorhandensein einer reichlichen Menge der Leibeshöhlentlüssigkeit zu achten. Nach der Befruchtung wurden die Eier in fließendes Wasser gebracht. Eine grössere Zahl von nummerierten Drahtkörbchen war in vier grösseren Zinkkästen aufgehängt. In diese Gefässe hinein wurde je ein scharfer Wasserstrahl geleitet. Die ganze Einrichtung erwies sich als sehr zweckmässig. Fast alle Kontrolltiere kamen zum Ausschlüpfen und konnten noch lange Zeit am Leben erhalten werden.

Die Temperatur des Wassers, bei der sich die Entwicklung vollzog, betrug durchschnittlich 11° C. Bis zum Ausschlüpfen der Kontrollen vergingen im allgemeinen 55—60 Tage.

Die Fixierung der Keimscheiben, resp. Embryonen, geschah nach der von H. Virchow-Kopsch angegebenen Methode. Nach einer Vorfixierung in Chrom-Essigsäure wurden die Keimlinge in (0,75 %) Kochsalzlösung auspräpariert, dann in Pikrin-Sublimat-Eisessig fixiert, in üblicher Weise durch die Alkoholstufen dann in Chloroform gebracht und in Paraffin eingebettet. Es war zweckmässig, zur leichteren Orientierung beim Einbetten alle kleineren Objekte mit Eosin vorzufärben. Für eine geringe Anzahl kam auch die Flemmingsche Fixierungsmethode zur Anwendung.

Die Objekte wurden in 75proz. Alkohol aufgehoben, zum Teil auch in Cedernöl.

Die Dicke der Paraffinschnitte betrug $5\ \mu$. Ungefähr 80 Keimscheiben und Embryonen sind in Schnittserien zerlegt worden.

Gefärbt wurden die Präparate mit Boraxkarmin, Hämalun (nach Meyer) oder nach der Heidenhain-Methode.

Alle Zeichnungen wurden mit Hilfe des Abbéschen Zeichenapparates angefertigt. Die Abbildungen der Totalobjekte wurden in uneigennützigster Weise von Herrn Zeichenlehrer Leben hergestellt. Die Schnittbilder zeichnete ich selbst.

Die folgende Darstellung gliedert sich in zwei Hauptteile. Der erste Teil enthält eine Beschreibung des Verlaufes der

einzelnen Versuche. Die Experimente unterschieden sich voneinander durch die Dauer der Bestrahlung der Samenfäden. Versuche, in deren Ergebnissen keine wesentlichen Abweichungen auftraten, werden in einem gemeinsamen Kapitel besprochen. So liessen sich folgende sechs Gruppen bilden.

Gruppe I	5 Min. R ₁	7 Min. R ₂		1 Min. Mth
Gruppe II	$\frac{1}{2}$ Std. R ₁	$\frac{1}{2}$ Std. R ₂		6 Min. Mth
Gruppe III	1 Std. R ₁	2 Std. R ₂	3 Std. R ₂	$\frac{1}{3}$ Std. Mth
Gruppe IV	8 Std. R ₁	8 Std. R ₂		
Gruppe V		14 Std. R ₂		2 Std. Mth
Gruppe VI	19 Std. R ₁	19 Std. R ₂		

Der zweite Teil enthält zunächst einige Erörterungen über Wesen und Bedeutung der Versuche. In den folgenden Kapiteln wird dann auf einzelne spezielle Erscheinungen eingegangen werden. Der Schlussteil enthält einen Vergleich der Resultate, die sich durch Bestrahlung der Keimprodukte der Forelle und des Frosches ergaben.

Gruppe I.

Bestrahlung des Samens während 5 Minuten mit R₁ (Versuch I), 7 Minuten mit R₂ (Versuch II), 1 Minute mit Mth (Versuch III).

Drei Versuche, die bezeichnet seien als I, II, III, in deren Verlauf keine wesentlichen Verschiedenheiten auftraten, sollen in diesem Kapitel besprochen werden. Die Bestrahlungen des Samens wurden vorgenommen am 28. Dezember von 9 Uhr 21 Min. bis 9 Uhr 26 Min. mit R₁ (Versuch I), von 9 Uhr 21 Min. bis 9 Uhr 28 Min. mit R₂ (Versuch II), am 29. Dezember von 9 Uhr bis 9 Uhr 1 Min. mit Mth (Versuch III). Drei Portionen von zusammen ungefähr 150 Eiern wurden mit den in allen Fällen noch nach der Bestrahlung gut beweglichen Spermien befruchtet. Mit ganz wenigen Ausnahmen trat bei allen Eiern eine Entwicklung ein.

Die Gleichmässigkeit des Verlaufes der Versuche I, II, III kennzeichnete sich zunächst dadurch, dass diese die einzigen Versuche blieben, in denen ein gewisser Prozentsatz völlig normaler

Embryonen zum Ausschlüpfen kam. In dem fixierten Material waren von 120 Keimlingen 50 wahrscheinlich ganz ungeschädigt. Die übrigen waren verschieden stark pathologisch. In Fig. 2, 5, 6 (Taf. V) sind Exemplare abgebildet, die den stärksten Grad der Schädigung zeigen, der in dieser Gruppe je zu beobachten war.

Untersuchungen, die an Furchungsstadien vorgenommen wurden, liessen keine von der Norm abweichenden Verhältnisse erkennen.

Die frühesten, deutlich sichtbaren Entwicklungshemmnisse fanden sich bei dreizehn Tage alten Embryonen. Bei den Kontrollen war in allen Fällen das Dotterloch schon geschlossen. Zwei der vier fixierten Objekte standen auf dem Entwicklungsstadium der Kontrolle, während bei den beiden anderen die Umwachsung des Dotters noch nicht ganz vollendet war. Es sind dies also nur Unterschiede, die auf eine langsamere Entwicklung der Radiumtiere schliessen lassen.

Am 13. Januar, also fünfzehn Tage nach der Befruchtung, wiesen einzelne Embryonen ziemlich erhebliche pathologische Störungen auf. Es wurden fixiert: aus Versuch I: 2 Embryonen (1 normal), Versuch II: 3 (1 normal), Versuch III: 4 (3 normal).

Als Typus dieser Serie kann der in Fig. 1 (Taf. V) abgebildete Keimling gelten. Am meisten auffällig erschien die Bildung des Kopfes. Während dieser bei normalen Verhältnissen eine starke Wölbung zeigt, fast halbkugelförmig dem Dotter aufliegt, ist er hier mehr als flache Platte entwickelt; er erhebt sich nur wenig über die Dotterhaut. Diese anormale Beschaffenheit des Kopfes lässt auf eine geringe Ausbildung von Gehirn- und Sinnesorganen schliessen. So ist auch die Kopfpartei, an der die Augen liegen sollten, nur durch eine ganz schwache, undifferenzierte Vorwölbung zu erkennen, während bei der Kontrolle schon deutlich eine Linse vom Augenbecher zu unterscheiden ist. Die Hemisphären des Mittelhirnes bilden nur sehr schmale Lappen. Das Körperende macht eine scharfe, nach links gehende Knickung. Während bei normalen, gleichalterigen Stadien der Rumpf in eine „Schwanzknospe“ ausgeht, verdickt erscheint, zeichnet sich hier diese Partie durch eine Zellenarmut aus; der Körper endet in einer stumpfen Spitze. Es ist dies eine häufige Erscheinung, die mit grösserer Deutlichkeit an etwas älteren Stadien auftritt, Fig. 2 (20 Tage), Fig. 5 (18 Tage).

Einen Tag jünger als der eben beschriebene Embryo sind zwei, deren Abbildungen in Fig. 3 und 4 (Taf. V) vorliegen. Diese sind hervorgegangen aus Versuch III, in dem der Samen 1 Minute mit dem Mesothoriumpräparat bestrahlt wurde.

Schon die Betrachtung des einen Totalobjektes Fig. 3 (V) bei schwacher Vergrößerung lehrte, dass es sich um eine ziemlich stark geschädigte Form handelte. Beide weisen eigentümliche Einzelheiten auf.

Fig. 4 zeigt eine Doppelbildung. Auf die Organisation des kleinen, als Anhang erscheinenden Embryos soll etwas genauer eingegangen werden. Zwei Schnitte (Taf. VI, 2 und 1) veranschaulichen seinen inneren Bau. Die Abbildung des Schnittes, der durch die Körpermitte geht (Fig. 1), zeigt die beiden Urnierengänge und die Coelomsäcke; hier nur andeutungsweise, auf anderen Schnitten jedoch deutlich hervortretend, den Darm, der kein Lumen besitzt. Gering, aber immerhin noch deutlich ausgebildet, erscheint das Rückenmark. Ein Zentralkanal fehlt. Die ganze Partie zwischen dem Medullarrohr einerseits, den Urnierengängen andererseits, ist von stark degeneriertem Gewebe erfüllt. Der Zusammenhang der Zellen ist gelöst. Die Kerne erscheinen bei der Färbung mit Boraxkarmin meist als intensiv rotleuchtende, homogene Körnchen. Die Wolffschen Gänge und der Darm, wie der zwischen diesen gelegene Teil zeigt in zytologischer Hinsicht fast normale Beschaffenheit. Die zerfallenen Zellen finden sich nur vorwiegend in der Region des Rückenmarkes wie auch der Muskelplatten.

Der zweite Schnitt (Fig. 2, Taf. VI) ist der Kopfgegend entnommen. Dorsalwärts liegt das Rückenmark, nur geringe Zerfallserscheinungen zeigend. Darunter finden sich zwei, als Gehörbläschen zu deutende Gebilde; sie nehmen also eine völlig verschobene Lage ein. Bemerkenswert sind noch die im Bilde etwas stark nach rechts verlagerten Perikardialräume. Weiter rostralwärts gehende Schnitte zeigen immer mehr zunehmend starken Zerfall des Zentralnervensystems.

Die Verhältnisse, die der Hauptembryo zeigt, sind weniger wichtig. Eigentümlich war nur das Vorhandensein einer doppelten Chorda.

Der zweite, mit diesem eben besprochenen gleichzeitig konservierte Embryo (Fig. 3, Taf. V) stimmte mit dem ersteren be-

züglich der Grösse ungefähr überein. Beide waren nur wenig kleiner als die Kontrolle, im ganzen etwas schwächer entwickelt. Auf die anormale Bildung des Kopfes ist noch etwas näher einzugehen. Er liegt breit dem Dotter auf als fast ebene Fläche und zieht sich vorn in eine etwas gebogene Spitze aus. Die verschiedenen Gehirnpartien sind nicht genauer zu bestimmen. Augen fehlen völlig. Am Totalobjekt deutlich wahrnehmbar ist eine tiefe Furche, die allmählich kaudalwärts sich verbreiternd, den Kopf in der Mittellinie durchsetzt. Die Betrachtung der Schnittserie lehrte, dass in dieser Region eine Spaltbildung vorliegt, die sich aber nur über einen relativ kurzen Bezirk ausdehnte. (80 Schnitte zu je 5 μ , für das ganze Objekt konnten 516 Schnitte gezählt werden.) Sie beginnt in der Region der Gehörbläschen und verläuft nach dem Schwanzende zu. Die Zellen der vorderen Gehirnabschnitte sind zum grössten Teil schon abgestorben. Aber schon Schnitte, die durch die Gehörbläschen gehen, zeigen die Gewebe fast frei von zerfallenen Zellen. So sind auf der Abb. 14, Taf. VI, nur noch in einem kleinen Teil des Rückenmarks die gleichmässig intensiv gefärbten Chromatinmassen zugrunde gegangener Zellkerne vorhanden. Dieselbe Figur zeigt ferner den noch ungeteilten Kiemendarm, während das Zentralnervensystem sich schon in zwei Teile gegliedert hat. Auffällig erscheint die stark gewundene Chorda. Es ist zu erkennen, wie sie teilweise in das Rückenmark eindringt. Ein derartig anormaler Verlauf des Achsenorgans zählt aber nur zu den Ausnahmefällen. Liegt keine Spaltbildungsform vor, so ist die Chorda immer, auch bei stärker geschädigten Embryonen, in sehr günstiger Weise entwickelt. Auch die übrigen Rumpfpartien zeigten, besonders im Rückenmark und den Muskelplatten, stellenweise ziemlich starken Zerfall. Die Organisation des eigentümlich gestalteten Körperendes war nicht sicher zu erkennen. Der Embryo lag etwas gekrümmt, so dass nur noch Schrägschnitte durch den Schwanzteil erhalten werden konnten, die die ohnehin schon schwierigen Verhältnisse völlig unübersichtlich machten. Wahrscheinlich lag aber auch hier eine Doppelbildung vor, nur dass der Anhangsembryo noch kümmerlicher ausgebildet war als im vorher beschriebenen Falle.

Je älter die Embryonen werden, um so deutlicher tritt der für diese Gruppe charakteristische Schädigungsgrad hervor. Zwei

18 und ein 20 Tage altes Stadium sind in den Fig. 5, 6 und 2, Taf. V, dargestellt; und zwar sind die ersteren aus Versuch III (1 Min. Mth), der letztere aus Versuch I (5 Min. R₁) hervorgegangen. Für beide ist bemerkenswert die geringe Körperlänge, wie unmittelbar durch einen Vergleich mit Fig. 1 (15 Tage alt) hervorgeht. Beide zeigen eine sehr geringe Entwicklung der Gehirnhemisphären. Der Ventrikel des Rautenhirnes ist klein. Ebenso sind Mittel- und Vorderhirn nur sehr schwach ausgebildet. Augenanlagen können gar nicht wahrgenommen werden. Normal gestaltet scheinen die Gehörbläschen zu sein. Auf das spitz zulaufende hintere Körperende wurde schon an früherer Stelle hingedeutet.

Fig. 6 stellt ein Exemplar vor, das in deutlicher Weise eine typische Verlagerung des Vorder- und Mittelhirnes zeigt. Während das Rautenhirn noch ganz normale Gestalt und Lage hat, ist das Mittel- und Vorderhirn ganz an die rechte Seite verschoben, und zwar so, dass es nicht mehr senkrecht auf der Dotteroberfläche steht, sondern schräg gegen dieselbe geneigt ist. Derartige Verlagerungen kehren in verschiedenen Ausbildungsgraden häufig wieder. Augen sind auch bei diesem Objekt nicht vorhanden; daher auch wieder die charakteristische Kopfform. Die übrige Organisation wies keine besonders bemerkenswerten Verhältnisse auf.



Fig. 1.

Es ist nun nicht immer der Fall, dass bei Embryonen, die eine deutliche Schädigung beobachten lassen, die Körperlänge geringer ist. Embryo 9 gilt dafür als Beispiel. Dieser zeigt eine normale Länge, trotzdem hier bei natürlicher Lage Vorder- und Mittelhirn in bedeutender Weise im Wachstum gehemmt sind. Die Augen fehlen auch in diesem Falle.

Die ältesten, näher untersuchten Stadien dieser Versuchsreihe sind in Fig. 7, 8 und 10, Taf. V, abgebildet. Sie sind 32, 31 und 33 Tage alt. Charakteristisch ist für diese drei Embryonen, die alle aus Versuch I und II hervorgegangen sind, die Lage des Schwanzes. Bei jüngeren Stadien konnte häufig, wie schon vorher erwähnt, beobachtet werden, dass der Schwanz, statt in die „Schwanzknospe“ auszugehen, in einer stumpfen Spitze endigte. Dies liess erwarten, dass das Längenwachstum ein sehr beschränktes sein würde, dass die neu gebildeten Gewebe sich durch

Zellenarmut auszeichnen würden. So zeigen auch bei diesen älteren Objekten die Ursegmente von der Umbiegungsstelle an nur kleine, dünne, wenig scharf begrenzte Formen. Dagegen sind bei Embryo 10 (Taf. V) die Muskelplatten vorhanden, die bei den beiden anderen nicht beobachtet werden konnten. Es ist also in diesen Fällen nicht die Biegung des Körpers an sich ein das Atrophieren des Rumpfes bedingendes Moment.

Was die übrige Organisation des Körpers anbetrifft, so stellt Embryo 10 (Taf. V) eine gut entwickelte Form dar. Die noch auftretenden pathologischen Erscheinungen sind nur geringfügig. In Fig. 2, Taf. VII, ist ein Schnitt durch die vordere Kopfregion dieses Objektes abgebildet. Wegen der starken Windungen des Körpers war es nicht immer möglich, genau senkrechte Schnittebenen zu erhalten. Deutlich vorhanden ist beiderseits ein wohlentwickeltes Auge. Der Augenbecher zeigt schon die Differenzierung der Pigmentschicht. Merkwürdig erscheint die Bildung einer doppelten Linse des bildlich rechten Sehorgans. Während die innere Linse vom Epithel schon losgelöst, die zellige Struktur nicht mehr erkennen lässt, sitzt die äussere, etwas kleinere, dem Ektoderm fest an. An der Berührungsstelle sind die Zellen des Epithels sehr klein. In zytologischer Hinsicht stehen beide Linsen auf gleichem Stadium. Rechts ist auch ein Anschnitt des Gehörorgans zu sehen, mit deutlichen Anlagen der Bogengänge. Wie schon dieser Schnitt verhältnismässig sehr geringe Abweichungen von normalen Zuständen erkennen lässt, so zeigen dies in noch höherem Maße die Schnitte, die durch die im allgemeinen weniger stark geschädigten Partien gehen. Auch Blutkörperchen sind sehr zahlreich vorhanden. Im Zusammenhang mit der Einrollung des Rumpfes steht wahrscheinlich die eigentümliche Ausbildung des Flossensaumes, wie durch Fig. 14, Taf. VI, veranschaulicht wird. Dieser läuft nicht dorsal und ventral um den Körper herum, sondern der ventrale Abschnitt hat seine natürliche Lage aufgegeben und ist an der Basis mit dem dorsalen Saum verschmolzen. Die gleiche Abbildung zeigt auch noch die etwas stärkere Ausbildung der Muskelplatten auf der konvexen Körperseite.

Bedeutend ungünstiger sind die Embryonen 7, 8, 10, Taf. V, entwickelt. Sie waren 32 und 33 Tage alt. Auffällig erscheint zunächst die stark aufgetriebene dünne Decke des Nachhirnes.

Augen sind nur als winzige, unregelmässig gestaltete Pigmentflecke erkennbar. Immer sind Brustflossen und der Flossensaum angelegt. Diese Embryonen zeigen einen Schädigungsgrad, der in dieser Kultur sehr häufig beobachtet werden konnte.

Gruppe II.

Bestrahlung des Samens während 30 Min. mit R_1 (Versuch IV), 33 Min. mit R_2 (Versuch V), 5 Min. mit Mth (Versuch VI).

Die Experimente wurden an folgenden Tagen ausgeführt: Versuch IV am 28. Dezember von 9 Uhr 38 Min. bis 10 Uhr 8 Min. mit R_1 ; Versuch V am 28. Dezember von 9 Uhr 38 Min. bis 10 Uhr 8 Min. mit R_2 ; Versuch VI am 29. Dezember von 9 Uhr 6 Min. bis 9 Uhr 11 Min. mit Mth. In allen Fällen waren die Spermien nach der Bestrahlung gut beweglich. Befruchtet wurden mit diesem Samen ungefähr 100 Eier in drei Portionen. 37 Furchungs- resp. Embryonalstadien wurden fixiert. Für die ersten Entwicklungsvorgänge konnten keine anormalen Verhältnisse festgestellt werden. Unmittelbar nachdem aber das Gastrulationsstadium erreicht war, am 13. Tage nach der Befruchtung, begann in allen drei Kulturen eine Sterbepériode. Am 22. Tage waren sämtliche Eier zugrunde gegangen. Die abgestorbenen Eier werden undurchsichtig, weiss; der Dotter ist geronnen. Immerhin ist nicht in allen Fällen die Entwicklung mit Beginn der Gastrulation beendet, sondern häufig gehen noch deutliche Embryobildungen hervor, wie Fig. 11—17, Taf. V, zeigen. Der Unterschied gegenüber den aus Versuch I, II, III hervorgegangenen Objekten ist sehr deutlich. Niemals wird auch hier nur das ungünstigste Stadium der Versuche der ersten Abteilung erreicht, wie ein Vergleich veranschaulicht.

In Fig. 15 ist der älteste aus dieser Abteilung fixierte Embryo abgebildet. Die Untersuchung dieses, wie auch aller anderen totalen Tiere bei schwacher Vergrösserung, liess keine Organdifferenzierung erkennen. Hin und wieder treten hintere Spaltbildungen auf (Fig. 13, 14).

Zu näherer mikroskopischer Untersuchung wurde Embryo 15 (19 Tage alt) in Schnitte zerlegt. Auffallend ist die starke Verbreiterung des ganzen Körpers. Das Gehirn, soweit es erkennbar, nimmt an der Verbreiterung nicht teil, sondern liegt als schmales

Rohr unsymmetrisch, im Bilde rechtsseitig verschoben. Die vorderen Hirnpartien sind ganz zerstört, Grenzen sind nicht zu erkennen, aber bereits in der Region der Gehörbläschen hat es eine festgefügte Form. Die wiedergegebene Abbildung Taf. VI, Fig. 10, zeigt einen Schnitt durch das eine Gehörorgan; das rechte ist nicht ausgebildet. Der Schnitt zeigt zunächst die starke Verbreiterung des Körpers. Die beiden Perikardialräume sind auffallend weit voneinander getrennt. Der Darm ist in zwei gut entwickelte Teile getrennt. Im vordersten Abschnitte des Kiemen darmes sind beide Darmhälften vereinigt. Alle übrigen Organe blieben ungeteilt. Im Zentralkanal wie auch im Rückenmark und den rechts davon gelegenen Geweben finden sich abgestorbene Zellmassen. Zwischen deutlichen, mit allen Einzelheiten erkennbaren Zellkernen liegen diese schon öfters erwähnten, zu kugeligen Körpern zusammengeballten Chromatinmassen. Von der übrigen Organisation wäre noch die wohlausgebildete, schon ziemlich stark vakuolisierte Chorda zu erwähnen. Je weiter kaudalwärts liegende Schnitte betrachtet werden, um so stärker zerfallen sind Rückenmark und Muskelplatten, während der Darm ein relativ gutes Aussehen hat, dessen einer Teil sogar ein Lumen erhält.

Gruppe III.

Bestrahlung des Samens während 60 Min. mit R_1 (Versuch VII), 2 Std. mit R_1 (Versuch VIII), 3 Std. mit R_2 (Versuch IX), $\frac{1}{2}$ Std. mit Mth (Versuch X).

Da die im vorigen Kapitel beschriebenen Versuche schon einen recht ungünstigen Verlauf nahmen, so liess sich erwarten, dass bei noch intensiveren Bestrahlungen entsprechend noch stärkere Entwicklungshemmnisse auftreten würden. Dies geschah auch. Es wurden nunmehr folgende Strahlungszeiten gewählt: Versuch VII: 1 Std. R_1 (30. Dezember, 9 Uhr 57 Min. bis 10 Uhr 57 Min.), Versuch VIII: 2 Std. R_1 (30. Dezember, 11—1 Uhr), Versuch IX: 3 Std. R_2 (30. Dezember, 9 Uhr 57 Min. bis 12 Uhr 57 Min.), Versuch X: $\frac{1}{2}$ Std. Mth (29. Dezember, 9 Uhr 19 Min. bis 9 Uhr 49 Min.). Immer war der bestrahlte Samen sehr gut beweglich. Befruchtet wurden zusammen ungefähr 100 Eier.

Soweit jüngere Furchungsstadien untersucht wurden, zeigten diese normale Verhältnisse. Erst die Gastrulation bedeutete den kritischen Wendepunkt. Am 13. Tage nach der Befruchtung.

genau wie in den im vorigen Kapitel beschriebenen Versuchen, setzte auch in diesen Kulturen eine Sterbepériode ein, die sich auf 5 Tage ausdehnte. Dann waren alle Eier abgestorben.

Anlagen von embryoähnlichen Gebilden konnten in einigen Fällen, aber nur aus Versuch VII (1 Std.), erkannt werden. Es waren dies winzige Zellkomplexe von stabförmiger (Fig. 19) oder birnenförmiger (Fig. 18) Gestalt.

Das aus Versuch VIII, IX und X konservierte Material liess nicht einmal das eben beschriebene Stadium der Entwicklung erkennen: was vielleicht in einigen Fällen überhaupt von embryonaler Anlage vorhanden war, bestand in einem formlosen, buckelförmigen Haufen von Zellen.

Durch die Bestrahlungszeiten der letzten drei Versuche wurden also für die Entwicklung der Eier die denkbar ungünstigsten Verhältnisse geschaffen, denn in keinem Falle kam eine deutliche Embryobildung zustande. Interessant ist, dass auch hier nicht ein einziges Ei vor dem 13. Tage nach der Befruchtung abstarb, so dass wir wohl berechtigt sind, anzunehmen, dass mit der Gastrulation die Krise eintrat.

Bezüglich des Beginns der Gastrulation in den Kontrollkulturen sei erwähnt, dass die ersten Knopfbildungen am 9. oder 10. Tage nach der Befruchtung beobachtet werden konnten. Während nun zu erwarten stand, dass bei noch stärkerer Bestrahlung der Samenfasern nicht einmal mehr das Gastrulationsstadium erreicht werden würde, so sollte doch der Verlauf des Versuches zu einem anderen Resultat führen.

Gruppe IV.

Bestrahlung des Samens während 8 Std. mit R_1 (Versuch XI), 8 Std. mit R_2 (Versuch XII).

Am 29. Dezember wurden zwei Versuche vorgenommen. Einmal wurde Samen von 9 Uhr 6 Min. bis 5 Uhr 6 Min., also 8 Std. mit R_1 (Versuch XI), das andere Mal die gleiche Zeit mit R_2 (Versuch XII) bestrahlt. Mit dem gut beweglichen Radiumsamen wurden zwei Portionen Eier von je ungefähr 30 Stück befruchtet. Auch der Verlauf dieser beiden Versuche zeichnete sich dadurch aus, dass innerhalb eines Zeitraumes von 8 Tagen, vom 13. bis zum 21. Tage, sämtliche Eier abstarben. Es liessen sich aber, trotzdem die Spermien erheblich längere Zeit den Radium-

strahlen ausgesetzt worden waren als in den Versuchen VIII—X, wieder deutlich entwickelte Embryonen züchten, wie Fig. 20—23 zeigen; sie kommen fast den aus Versuch IV—VI (Fig. 11—17) erzielten Exemplaren gleich. Die Abb. 2 und 3 veranschaulichen zwei 19 Tage alte Objekte. Allerdings waren sie wahrscheinlich zur Zeit der Konservierung schon abgestorben, aber immerhin konnte deutlich ein Nachhirn und Ohrenbläschen erkannt werden. Der vordere Kopfteil war sehr flach und scheinbar schon ziemlich stark in Zerfall übergegangen. Aber gut entwickelt war das Schwanzende, das sich schon vom Dotter loszulösen begann.

Ein jüngeres Stadium, das auch zu mikroskopischer Untersuchung in Schnitte zerlegt wurde, ist in Fig. 20 abgebildet. Es war 19 Tage alt. Während die Betrachtung bei schwacher Vergrößerung irgendwelche Organdifferenzierung nicht erkennen liess, zeigte die Untersuchung der Schnittserie ein Medullarrohr, Chorda, Darm, Muskel und Seitenplatten. Aus dem Verbinde gelöste Zellen mit pyknotisch gewordenen Kernen finden sich vorwiegend im Bereich der vorderen Hirnpartien, aber auch das Rückenmark sowie die Muskelplatten sind nicht frei davon. Bemerkenswert ist die Lageveränderung des Gehirnes. In seinem vordersten Teil liegt es fast ganz mit der Seitenfläche dem Dotter auf, und erst allmählich kehrt es in seine natürliche Lage zurück. Fig. 8, Taf. VI, veranschaulicht diese Verhältnisse. Es nimmt das Rückenmark nicht die senkrechte Richtung zur Dotteroberfläche ein, sondern liegt nach rechts geneigt. Dieser veränderten Stellung und der Lage des Embryo in einer Ausbuchtung des Dotters ist es zuzuschreiben, dass nun auch der Kiemendarm auf der im Bilde rechten Seite keinen Anschluss an die Epidermis mehr gewinnen kann. Im übrigen zeigt uns der Schnitt, der gerade durch den Anfangsteil der Chorda geht, das gut gebildete Rückenmark, das noch keinen Zentralkanal besitzt, mit wenigen zerfallenen Zellen.

Die gleichen Bestrahlungszeiten mit denselben Präparaten wurden auch in der ersten Versuchsserie (Anfang Dezember) gewählt. In einigen Fällen entwickelten sich wieder auffallend gut gebildete Tiere. Eins davon ist in Fig. 23 abgebildet worden. Von der interessanten inneren Organisation wird an anderer Stelle gesprochen werden. Hier genügt festzustellen, dass ein Alter von 23 Tagen erreicht wurde, und dass sie eine nicht unbeträchtliche Grösse hatten. Der Zerfall der Gewebe war nicht wesentlich.

Gruppe V.

Bestrahlung des Samens während zwei Stunden mit Mth (Versuch XIII).

Für diesen Versuch, in dem der Samen am 30. Dezember von 11 bis 1 Uhr bestrahlt wurde, ist das Auftreten von Spaltbildungserscheinungen äusserst charakteristisch. Während schon in vorigen Kapiteln gelegentlich, aber immer nur bei ganz gering entwickelten Exemplaren, auf eine Gabelung des hinteren Rumpfes hingewiesen werden konnte, tritt hier, in mindestens zwei Drittel aller beobachteten Fälle, auch an relativ sehr weit fortgeschrittenen Stadien, diese Missbildung auf. Wegen des allgemeinen Interesses, das die dorsale Spaltbildung als *Spina bifida* bekannte Erscheinung hat, soll in einem späteren Kapitel speziell darauf näher eingegangen werden. In diesem Zusammenhang genügt es, das sehr häufige Auftreten dieses Missbildungstypus zu konstatieren.

Im auffälligen Gegensatz steht dieser Versuch zu den in den drei vorigen Kapiteln beschriebenen durch das Ausbleiben einer Sterbepériode, trotz der noch intensiveren Bestrahlung der Samenfäden.

Es wird die Gastrulation, die ja immer das kritische Stadium darstellte, von allen Eiern gut überstanden. Die Lebensdauer ist wieder erheblich länger. Am 31. Januar, 33 Tage nach der Befruchtung, konnten noch durchaus wachstumsfähige Embryonen fixiert werden.

Gehen wir zur speziellen Darstellung über.

Die bestrahlten Spermien, mit denen ungefähr fünfzig Eier befruchtet wurden, waren ausserordentlich gut beweglich. Die ersten Furchungen vollzogen sich in normaler Weise. Eine Anzahl untersuchter zwei- und viergeteilter Keimscheiben liess eine ganz gleichmässige Beschaffenheit der Blastomeren erkennen.

Die Ausbildung der Organe der gebildeten Embryonen zeigte ungefähr das gleiche Bild, wie es schon für Versuch I, II, III angegeben wurde. Vorwiegend äussern sich die Schädigungen in einem defekten Zustande des Gehirnes, und zwar, da es sich um geringere Störungsgrade handelt, weniger in Zerfall der Zellen des Gewebes, als vielmehr um Verlagerungserscheinungen des Medullarrohres. Bei älteren Stadien, die nach dem 25. Tage nach

der Befruchtung fixiert wurden, machte sich in stärkerem Maße ein Zerfall, speziell des Zentralnervensystems, bemerkbar.

In Fig. 24—45 sind eine Anzahl von Embryonen dieses Versuches abgebildet. Diese weisen alle verschiedene Grade von Spaltbildungen auf. In Fig. 43—45 sind drei Objekte dargestellt, deren Rumpf ganz einheitlich gestaltet ist. Der Vergleich mit der Kontrolle (Fig. 42) zeigt, dass der Grössenunterschied nicht sehr erheblich ist. Sie waren 19 Tage (Fig. 44 und 45) und 21 Tage (Fig. 43) alt. Bezüglich der Differenzierung des Gehirnes standen sie der Kontrolle noch bedeutend nach. Vorder- und Mittelhirn sind stark verlagert, so dass ihr wirklicher Verlauf in den Flächenbildern nicht zur Geltung gebracht werden konnte. Die Augen waren in einigen Fällen gut angelegt, wie die Abbildung des Schnittes 3. Taf. VI. zeigt. Das Nachhirn erscheint nur als schmaler Spalt. Häufiger ging der Kopf vorn wieder in eine Spitze aus. Es hat dies dann auch hier seinen Grund in der sehr geringen Ausbildung der Augen. Häufig wird nur ein Auge angelegt (Fig. 12. Taf. VI). Bei jüngeren Stadien schien das Gehörbläschen ganz normal entwickelt, während es bei älteren bläschenförmig aufgetrieben ist (Fig. 36. Taf. V, 27 Tage alt). Die übrigen Organisationsverhältnisse boten bei den Embryonen, deren Rumpf nicht geteilt war, wenig von der Norm abweichende Verhältnisse.

Auch in dieser Gruppe vollzieht sich die Entwicklung der Radiumembryonen etwas langsamer, als die der normalen Tiere. In welcher Weise sich diese Wachstumsverzögerung geltend macht, soll an dem Beispiel eines vierzehntägigen Embryos gezeigt werden. Es ist nicht ganz unwichtig, das Entwicklungsstadium dieses Objektes genau festzulegen, weil an diesem an späterer Stelle noch einige interessante Verhältnisse von Kerngrösse und Zahl der Kerne gegeben werden. Diese Beziehungen sind von dem Entwicklungsstadium in ausserordentlich hohem Maße abhängig. Zum Vergleich soll das Organisationsstadium der Augen, des Gehörbläschens, des Herzens und des Coeloms dienen.

In der Körpergrösse stimmen die Versuchstiere (Taf. V, Fig. 33—37) mit der einen Tag älteren Kontrolle ungefähr überein. Das Auge des Radiumembryos stand noch auf dem Bläschenstadium. Eine Einstülpung der äusseren Wand wie auch die Anlage der Linse war noch nicht erfolgt. Das Herz ist noch

nicht vorhanden. Die Coelomsäcke beginnen sich gerade zu entwickeln. Auf fast genau dem gleichen Stadium befand sich die einen Tag jüngere Kontrolle (13 Tage); sicherlich war diese aber nicht weiter entwickelt als der Radiumembryo. Demgegenüber zeigte ein fünfzehn Tage altes, normales Tier etwa folgende Organisation: Die Augen haben Becherform angenommen; eine Linse ist vorhanden. Das Herz ist deutlich ausgebildet. Das Coelom hat einen Perikardialraum abgegliedert.

Bestrahlung des Samens während 19 Stunden mit R_2 (Versuch XIV) oder R_1 (Versuch XV).

In diesen letzten Experimenten wurde frischer Samen vom 30. Dezember 2 Uhr 45 Min. bis zum 31. Dezember 9 Uhr 35 Min. mit R_1 , eine zweite Portion die gleiche Zeit mit R_2 bestrahlt, also 19 Stunden. Nach der Bestrahlung liess sich in beiden Fällen keine Beweglichkeit der Spermien mehr feststellen. Trotzdem wurde in beiden Versuchen die Besamung von ungefähr 40 Eiern ausgeführt. Diese Massnahme war sehr zweckmässig, denn überraschenderweise kam ein beträchtlicher Teil der Eier zur Entwicklung. Es konnten ausserordentlich weit differenzierte Embryonen gezüchtet werden, die ein Alter bis zu 52 Tagen erreichten, während die Kontrollen im allgemeinen am 60. Tage nach der Befruchtung ausschlüpfen. Allerdings ist zu berücksichtigen, dass die Entwicklung der Radiumembryonen etwas verlangsamt ist, so dass das Organisationsstadium dieser ältesten Embryonen nicht das gleiche war, wie es ein Kontrolltier von entsprechendem Alter zeigte.

Der positive Verlauf dieser beiden Versuche macht es wahrscheinlich, dass nach der Bestrahlung doch noch eine Beweglichkeit der Samenfäden, wenn auch vielleicht nur in geringem Maße, bestanden haben muss. Bei der ohnehin äusserst geringen Lebensdauer der Forellenspermien (30 Sek.) und der hier durch die starke Bestrahlung sicherlich sehr geschwächten Lebenstätigkeit war eine Täuschung leicht möglich.

Der Kontrollsamens zeigte, auch nachdem er 19 Stunden in der feuchten Kammer gestanden hatte, eine normale Beschaffenheit. Dagegen war die Entwicklung der Kontrollkulturen nicht so günstig wie in den anderen Fällen, denn, obwohl das embryonale Wachstum in ganz normaler Weise vor sich ging, so starben

doch eine verhältnismässig grosse Zahl der Tiere unmittelbar vor dem Ausschlüpfen ab. Es scheint somit nicht ausgeschlossen, dass dieses ungünstigere Ergebnis auf das lange Stehen des Samens zurückzuführen ist.

Die Resultate von Versuch XIV und XV stehen in auffallendem Gegensatz zu allen bisher beschriebenen Fällen. Kommt überhaupt eine Embryobildung zustande, so ist diese von fast völlig normaler Beschaffenheit. Nie treten Spina bifida-Bildungen auf oder derartige Erscheinungen, wie sie für die ersten drei Versuche beschrieben wurden. Immerhin sind auch noch Versuch XIV und XV in den Ergebnissen deutlich voneinander zu unterscheiden, wie schon aus folgendem, rein statistischem Vergleich hervorgeht. Es enthielt Versuch XIV (19 Std. R₂) 39 Eier, von denen 21 Embryonen lieferten, während in Versuch XV (19 Std. R₁) das Verhältnis von 34 Eiern zu 10 Embryonen bestand. Die Zahlen bekommen mehr Bedeutung, wenn der Ausbildungsgrad der Objekte in Betracht gezogen wird. Da zeigte sich, dass aus Versuch XIV wohl die grössere Zahl, im allgemeinen aber weniger gut gebildete Tiere, aus Versuch XV weniger, aber besser entwickelte Embryonen hervorgegangen waren.

Wenden wir uns zunächst einer kurzen Betrachtung von Versuch XIV zu. 17 Exemplare wurden fixiert und zwar am 30., 31., 33., 36., 37., 39., 47. und 51. Tage nach der Befruchtung. Noch später vorgenommene Fixationen ergaben nur schon völlig abgestorbenes Material. Zehn der konservierten Embryonen zeigten bei schwacher Vergrösserung, als Totalobjekt betrachtet, auch nicht die geringste Spur einer anormalen Entwicklung. Nur bezüglich der Grösse bleiben sie deutlich wahrnehmbar hinter der Kontrolle zurück, während sie, untereinander verglichen, nur wenig verschieden sind. Sieben andere sind schwach pathologisch. Dies zeigt sich besonders in einer ziemlich starken seitlichen Zusammendrückung des Kopfes. Mittel- und Vorderhirn sind geringer ausgebildet, etwas verlagert. Augen sind bei einigen nur als unregelmässig pigmentierte Flecken zu erkennen. Die Körpergrösse erscheint aber gegenüber den wohl gebildeten Tieren des gleichen Versuches nicht reduziert.

Aus Versuch XV (19 Std. R₁) wurden sechs Embryonen fixiert. Diese waren jedoch alle, bis auf einen, völlig normal; der Grössenunterschied gegenüber der Kontrolle war wieder vor-

handen. Konserviert wurden die Objekte am 30., 33., 44. Tage nach der Befruchtung. Taf. V, Fig. 46, zeigt die Differenz der Grösse zwischen Versuchstier und Kontrolle (44 Tage alt). Bei jüngeren Exemplaren ist der Unterschied nicht so erheblich. Was die Organisation dieses Exemplares anbetrifft, so waren normale pigmentierte Augen vorhanden mit Linsenbildung. Das Gehirn entsprach ganz der Norm. Deutlich sichtbar sind die Brustflossen wie auch der Flossensaum.

Trotzdem also bei äusserlicher Betrachtung der Objekte gar keine Veränderungen in morphologischer Hinsicht wahrzunehmen waren, kamen diese Tiere doch nicht zum Ausschlüpfen. Es konnte daher erwartet werden, dass das Studium der Schnittserie noch Schädigungen in irgend welcher Form würde erkennen lassen. Dies war auch der Fall. Vier Embryonen wurden in Schnitte zerlegt und zeigten übereinstimmend pathologische Veränderungen im Vorder- oder Mittelhirn. Die Augenbecher wiesen, besonders an der Eintrittsstelle des Nervus opticus, in erheblichem Maße lose Zellenmassen auf (Abb. 3, Taf. VII). Die zugrunde gegangenen Zellen hatten wieder das charakteristische Gepräge. Die Kerne waren pyknotisch geworden. Eine Struktur war nicht mehr vorhanden, sondern sie stellten homogene, sich intensiv färbende Gebilde dar. Wie der wiedergegebene Schnitt zeigt, ist der Zusammenhang fast sämtlicher Zellen der Retina aufgehoben. Die Pigmentschicht ist wohl erhalten. Es muss aber betont werden, dass dieser Schnitt nur ein Bild von den stärksten Störungen gibt, die sich in diesem Embryo vorfanden. Alle übrigen Organe waren in völlig normaler Weise angelegt und frei von zerfallenen Zellen. Zum Vergleich ist in Fig. 1, Taf. VII, ein etwas jüngeres Kontrollstadium abgebildet. Der Grössenunterschied ist deutlich.

Der eben beschriebene Störungsgrad war typisch für Versuch XV. Alle untersuchten Objekte zeigten ein annähernd gleiches Aussehen. Aus Versuch XIV dagegen, in dem der Samen also auch 19 Stunden, aber mit R_2 bestrahlt worden war, gingen, wie schon vorher näher beschrieben wurde, neben fast völlig normalen Embryonen doch noch eine gewisse Zahl etwas stärker geschädigter Formen hervor.

Der Verlauf von Versuch XV liess erwarten, dass eine neunzehnstündige Bestrahlung des Samens mit dem stärkeren Radium-

präparat fast die äusserste Grenze darstellt, für die überhaupt noch ein positives Ergebnis der Experimente zu erzielen ist.

Bestrahlung des Samens während 24 Std. mit R_2 ,
2 $\frac{1}{2}$, 3, 4, 5 Std. mit Mth.

Nach 24stündiger Bestrahlung mit R_1 oder R_2 , oder nach 2 $\frac{1}{2}$ -, 3-, 4-, 5stündiger Bestrahlung mit Mth konnte keine Beweglichkeit der Spermien mehr wahrgenommen werden. Stets wurde auch in diesen Fällen die Besamung von Eiern vorgenommen, aber eine Entwicklung kam nie zustande.

Das Gesetz der Kurvenbildung.

Neben den Missbildungserscheinungen mannigfachster Art, die als Folge der Bestrahlung der Samenfäden auftraten, erregt vor allem unsere Aufmerksamkeit die merkwürdige Tatsache, dass bei sehr starker Einwirkung der Strahlen die Versuche wieder einen auffallend günstigeren Verlauf nahmen.

Zuerst haben O. und G. Hertwig bei ihren Radiumversuchen diese auffälligen Erscheinungen beobachtet. Wurden Samenfäden (B-Serie) oder unbefruchtete Eier (D-Serie) von *Rana fusca* sehr lange bestrahlt (12 Stunden) und dann zur Besamung normaler Eier verwendet, resp. Eier mit normalen Spermien besamt, so konnten sehr viel besser entwickelte Larven gezüchtet werden als bei Wahl kürzerer Bestrahlungszeiten, während eine nur geringe Einwirkung des Radiumbromids bereits zum Teil recht erhebliche Schädigungen bedingte.

Es besteht also das proportionale Verhältnis zwischen Bestrahlungsdauer der Keime und den daraus resultierenden Störungsgraden der Embryonen nur, solange die den Spermien zugeführte Strahlenmenge ein gewisses Maß nicht überschreitet. Wird die Bestrahlung über diesen Wert hinaus verstärkt, so kehrt sich das Verhältnis um, d. h. es wird jetzt die Entwicklung um so günstiger, je intensiver die Einwirkung des Radiumbromids ist. In anschaulicher Weise stellten O. und G. Hertwig diese Verhältnisse durch Kurven dar. Es gibt jede Kurve die Resultate der Versuche für ein bestimmtes Radiumpräparat. Welches die inneren Gründe sind, die zu diesen eigentümlichen Beziehungen führen, in denen die Ergebnisse der schwachen, mittleren und starken Bestrahlungsversuche zueinander stehen, gibt G. Hert-

wig (1911) auch im Sinne O. Hertwigs folgendermaßen: „Bei ganz kurzer Dauer, 5 Minuten langer Bestrahlung, ist die Schädigung noch so unbedeutend, dass der Radiumkern gegenüber dem normalen Kern in nur geringem Grade störend einzuwirken vermag. Bei $\frac{1}{4}$ - bis $\frac{1}{2}$ stündiger Bestrahlung ist die Schädigung grösser, der Radiumkern hat aber noch die Fähigkeit, sich zu vermehren. Er beeinflusst daher das Entwicklungsprodukt schon auf früheren Stadien. Bei langer Bestrahlung ist die Schädigung des bestrahlten Kernes noch grösser, da sie ja proportional der Strahlenmenge wächst (O. Hertwig). Der Radiumkern kann sich jetzt aber nur noch langsam vermehren, der normale andere Kern wächst rascher, die normale Kernsubstanz überwiegt daher das Radiumchromatin, die Entwicklung wird daher jetzt besser verlaufen. Endlich, im extremen Fall, ist der Radiumkern ganz degeneriert: er hat die Fähigkeit, zu wachsen und sich zu teilen, verloren, er nimmt an der Entwicklung gar nicht mehr teil; diese verläuft daher, weil nur vom normalen Halbkern abhängig, ganz normal (Parthenogenese).“

Gehen wir dazu über, zu untersuchen, inwiefern die für die Froschversuche gegebenen Erklärungen und Darstellungen auch für die Resultate unserer Versuche gelten.

Wie aus der Beschreibung im ersten Kapitel ohne weiteres hervorgeht, könnte auch bei unserem Objekt für jede der drei Versuchsserien, entsprechend den drei verschiedenen radioaktiven Präparaten, die verwendet wurden, ein Kurvenbild aufgestellt werden. Auch hier würde durch die kurze, mittlere, lange Bestrahlung und dem sich daraus ergebenden Entwicklungsgrad der Embryonen der aufsteigende Teil, das Gebiet des Maximums und der fallende Abschnitt der Kurve festgelegt werden. Es lässt sich aber auch die Darstellung vereinfachen und die drei Kurvenbilder zu einem einzigen zusammenfassen. Um eine derartige Zusammenfassung zu ermöglichen, ist es zunächst notwendig, unabhängig zu werden von der verschiedenen Stärke der zur Anwendung gekommenen Präparate. Dieses gelingt, wenn lediglich die in den einzelnen Versuchen angewendeten Energiemengen, unabhängig von der Zeit, berücksichtigt werden. Es soll daher die von 1 mg in einer Minute ausgestrahlte Energiemenge mit e bezeichnet werden. Wir betrachten also nur das Produkt aus der Zeit und der Stärke des zur Anwendung gekommenen Radium-

präparates in Effekteinheiten. Auf diese Weise lassen sich alle ausgeführten Versuche nach wachsenden Werten von e in eine Reihe bringen. Durch eine leichte Umrechnung kann dann folgende Tabelle gewonnen werden.

Gruppe I	5 Min. R_1 37,5 e	7 Min. R_2 37,1 e		1 Min. Mth 55 e
Gruppe II	$\frac{1}{2}$ Std. R_1 225 e	$\frac{1}{2}$ Std. R_2 159 e		6 Min. Mth 330 e
Gruppe III	1 Std. R_1 450 e	2 Std. R_2 900 e	3 Std. R_2 954 e	$\frac{1}{2}$ Std. Mth 1650 e
Gruppe IV	8 Std. R_1 3600 e	8 Std. R_2 2544 e		
Gruppe V		14 Std. R_2 4452 e		2 Std. Mth 6600 e
Gruppe VI	19 Std. R_1 8550 e	19 Std. R_2 6042 e		

Es ist verständlich, dass diese Einführung der Grösse e nur vorgenommen werden konnte unter der Voraussetzung, dass es gleichgültig ist, ob man in einem Fall kurze Bestrahlung mit starkem Präparate, oder im anderen Falle eine lange Bestrahlung mit schwachem Präparate ausführt, wenn in beiden Fällen eine gleiche Strahlenmenge zur Anwendung kommen soll. Besteht diese Voraussetzung zu Recht, so muss mit Berücksichtigung des Gesichtspunktes, nach dem die Gruppierung der Versuche ursprünglich vorgenommen wurde, in jeder Abteilung eine geringere Strahlenmenge zugeführt worden sein, als in der darauf folgenden. Da zeigt sich nun in der Gruppe V und VI eine Unstimmigkeit. Wie aus der Beschreibung im ersten Teil hervorgeht, sind aus Versuch XIII (2 Std. Mth, 6600 e) sicher stärker missbildete Embryonen hervorgegangen als aus Versuch XV (19 Std. R_2 , 6042 e), trotzdem bei diesen starken Bestrahlungen das Verhältnis hätte umgekehrt sein müssen. Es verlief Versuch XV (6042 e) so, als ob noch erheblich mehr Energie zugeführt worden wäre als in Versuch XIII (6600 e). Dieser Widerspruch wird durch Berücksichtigung der verschiedenen Zeitdauer der Bestrahlung gelöst. Es ist bereits früher darauf hingewiesen worden, dass schon ein längeres Stehen (24 Std.) der Spermien in feuchter

Kammer eine Verminderung der Lebensfähigkeit bedingt. So setzen also Spermien, die lange Zeit mit schwachen Präparaten bestrahlt werden, den schädigenden Strahlen weniger Widerstand entgegen, werden also stärker beeinflusst als solche, denen gleiche Energiemenge in erheblich kürzerer Zeit zugeführt wird. Nach der vorher angeführten Hypothese Hertwigs entspricht der stärkeren Schädigung des bestrahlten Kernes eine bessere Entwicklung des Embryos, nachdem das Maximum der Schädigung einmal überschritten ist. Daher erklärt es sich, dass in Versuch XV mit 6042 e (24 Std.) ein grösserer Effekt erzielt wurde als in Versuch XIII mit 6600 e in 2 Stunden.

Es sind aber noch folgende Umstände zu berücksichtigen. Schon eine $2\frac{1}{2}$ stündige Bestrahlung mit Mth genügte, um alle Spermien völlig abzutöten, also durch Anwendung von 8250 e. Andererseits verlief der Versuch XIV, 19 Std. R₁, noch positiv, also bei 8550 e. Es ergibt sich daher ein Widerspruch gegen die vorher gegebenen Erörterungen. Da schon eine in $2\frac{1}{2}$ Stunden zugeführte Strahlenmenge von 8250 e auf die Samenfäden absolut tödend einwirkt, so müsste dies mit noch viel höherer Sicherheit bei 8550 e, die in 19 Stunden zugeführt werden, zu erzielen sein. Dies trat aber nicht ein. Nun lieferte aber bereits Versuch XV (19 Std. R₂, 6042 e) zum Teil Embryonen, die von gleichgutem Organisationsgrade waren wie die des Versuchs XIV (19 Std. R₁, 8550 e). Demnach kann also folgendes gesagt werden: in Versuch XV (19 Std. R₂, 6042 e) war ein gewisser Prozentsatz der Spermien schon völlig abgetötet, da ja nur relativ wenige Embryonen zur Entwicklung kamen, ein anderer Teil so stark geschädigt, dass scheinbar ganz normal gebildete Tiere heranwachsen konnten, der Rest war weniger geschädigt, so dass ein etwas höherer Missbildungsgrad resultierte. Hingegen waren im Parallelversuch (19 Std. R₁, 8550 e) der grösste Teil der Samenfäden abgetötet, und dann nur noch so stark geschädigte vorhanden, dass eine normale Entwicklung der Keimlinge stattfinden konnte.

Diese Betrachtung zeigt, in wieviel höherem Maße eine Ungleichmässigkeit der Versuchsergebnisse eintritt, wenn Samenfäden mit schwachen Präparaten bestrahlt werden. Aus diesen Tatsachen konnten die beiden Sätze erhalten werden, dass einmal bei langen Bestrahlungszeiten auch die Zeit an sich als Schädigungs-

faktor in Betracht gezogen werden muss; zweitens, dass starke radioaktive Präparate eine gleichmässiger Schädigung hervorrufen. Mit Berücksichtigung dieser beiden Sätze lassen sich alle vorher erwähnten Schwierigkeiten beseitigen, die unter Einführung der Grösse e dem Gesetze der Kurvenbildung entgegenstanden.

Nach diesen Erörterungen wird es leicht verständlich sein, wie das Kurvenbild in unserem Falle gestaltet sein muss. Aus der Darstellung im ersten Teile geht hervor, dass in bestimmten Kulturen am 13. Tage nach der Befruchtung eine Sterbepériode eintrat. Es liess sich also schon durch eine rein statistische Methode feststellen, dass sich gewisse Kulturen vor anderen durch einen bedeutend stärkeren Schädigungsgrad auszeichneten. Um in übersichtlicher Weise zu zeigen, wie sich zahlenmässig das Absterben auf die einzelnen Tage verteilt, sei im folgenden eine Tabelle wiedergegeben, aus welcher der scharfe Gegensatz der Versuche mit und ohne Sterbepériode ausserordentlich deutlich hervorgeht. Gleichzeitig sind auch in der Tabelle alle fixierten Radiumobjekte eingetragen.

So liess sich also zeigen, dass durch eine Bestrahlung während einer halben Stunde mit R_1 oder R_2 , 1,2 Std. R_1 , 3 Std. R_2 , 8 Std. R_1 oder R_2 , 6 Min. $\frac{1}{2}$ Std. Mth ein starker Schädigungsgrad erreicht wird. Es entspricht dies also folgenden Energieeinheiten: 159 e, 225 e, 450 e, 900 e, 954 e, 3600 e, 2544 e, 330 e, 1650 e. Stärkere oder schwächere Bestrahlungen führten in allen Fällen zu günstigen Resultaten. Die Untersuchung des fixierten Materials half nun weiter den Bezirk von 159 e bis 3600 e zu begrenzen. Deutlich war der Unterschied der Gruppe II und IV, III gegenüber. In Gruppe III liess sich Versuch VII von VIII—X abgliedern, die den ungünstigsten Verlauf von allen Experimenten hatten. Ausführlich sind diese Verhältnisse im ersten Kapitel behandelt. Es kann demnach gesagt werden, dass die embryonale Entwicklung dann am ungünstigsten verläuft, wenn die Samenfäden, die zur Befruchtung normaler Eier verwendet wurden, mit 900 bis 1650 Energieeinheiten bestrahlt werden. Demnach ist das Kurvenbild festgelegt. Als Abszissenwerte des Koordinatensystems werden die Energieeinheiten gewählt, zu Ordinatenwerten der jeder Strahlenmenge entsprechende durchschnittliche Entwicklungsgrad der Embryonen, wie im ersten Teil genauer charakterisiert worden ist. In dem absteigenden Teil

ändert sich der Verlauf der Kurve, je nachdem die Bestrahlung mit starken oder schwachen Präparaten vorgenommen wird. Für unsere Versuche, in denen Präparate verwendet wurden, die einer Stärke von 5,3; 7,5; 55 mg reinem Radiumbromid entsprachen, ist der Kurvenverlauf in der Weise gestaltet, wie Textfig. 2 zeigt.

Der abweichende Verlauf macht sich von dem Punkte an geltend, von dem an die Zeit als Schädigungsfaktor mit in Betracht gezogen werden muss. Die Kurve fällt schneller für die Versuche, in denen R_1 oder R_2 verwendet wurde. Andererseits ist sie für diese beiden Serien länger. Die grössere Ausdehnung hängt eben mit der grösseren Ungleichmässigkeit der Versuchsergebnisse zusammen, die sich durch Benutzung schwächerer Präparate ergeben.

Parthenogenetische Forellenembryonen.

Das im vorigen Kapitel gegebene Kurvenbild zeigt einen unsymmetrischen Bau. Die Kurve erreicht sehr schnell ihr Maximum, um dann allmählich wieder zu fallen. Es ist dies der Ausdruck dafür, dass bereits die geringe Energiemenge von 37 e genügt, um beträchtliche Schädigungen der Embryonen zu bewirken. Schon eine Strahlenmenge von 900—1650 e rief die stärksten Störungen hervor; mit Beginn der Gastrulation starben alle ab. Es kommt keine Organdifferenzierung mehr zustande. Von dem Punkte der Maximalschädigung ist noch die relativ sehr grosse Energiemenge von ungefähr 7000 e erforderlich, um Embryonen entstehen zu lassen, die ein Alter bis zu 52 Tagen erreichen und ganz normales Aussehen zeigen.

Diese Betrachtungen legen es nahe, anzunehmen, dass die inneren Vorgänge, die sich abspielen und einerseits bei den schwachen, andererseits bei den starken Bestrahlungsversuchen zu Embryobildung führen, wesentlich verschieden voneinander sein müssen. Die Erklärung, die O. und G. Hertwig für entsprechende Erscheinungen, wie sie bei den Froschexperimenten auftraten, geben, ist bereits im vorigen Kapitel angeführt worden. Es handelt sich demnach vorwiegend um eine Schädigung des Spermakernes. Der Kern ist ausserordentlich empfindlich gegen radioaktive Strahlen, so dass schon eine Einwirkung während einer Minute auf die Samenfäden für die spätere embryonale Entwicklung die schwersten Störungen hervorruft. Ohne dass

	28. XII.	29. XII.	30. XII.	31. XII.	1. I.	2. I.	3. I.	4. I.	5. I.	6. I.	7. I.	8. I.	9. I.	10. I.	11. I.
5 Min. R. I. I.	×										2.		3.		2. 3†
7 Min. R. II. II.	×										2.				
5 Std. Mth III.	×														
1/2 Std. R. I. IV.	×											1†	2† 3. 1†	4†	5† 1† 1†
33 Min. R. II. V.	×										3.	2.	5† 1†	1†	4† 2† 1†
6 Min. Mth VI.		×				3.							1†	1†	3† 3.
1/2 Std. Mth VII.		×				2.							1† 3	6†	4† 1† 1†
3 Std. R. II. VIII.			×				2.								3† 4† 3.
2 Std. R. I. IX.		×				2.			3.		2.			1† 3.	1†
19 Std. R. I. X.				×											
19 Std. R. II. XI.				×											
2 Std. Mth XII.				×		1.		1.					1.	3.	2.
1 Min. Mth XIII.		×				3.						2.	1†	3.	
1 Std. R. I. XIV.			×				4.	4.					1†	3† 3. 1†	1†
8 Std. R. I. XV.		×										2.	4.	5† 1†	2†
8 Std. R. II. XVI.		×										2.			2†

Zeichenerklärung: × = Tag der Befruchtung. . = Fixierte Objekte. † = Abgestorbene Objekte.

1. I.	11. I.	12. I.	13. I.	14. I.	15. I.	16. I.	17. I.	18. I.	19. I.	20. I.	21. I.	22. I.	23. I.	24. I.	25. I.	26. I.	27. I.
	2. 3†		3.		5.	4.			5.							5.	
			3.				8.	7.				5.		10.			
	5† 1† 1†	2† 3.		1† 3.		2† 4.		1†		2†			1†				
	4† 2† 1†	1†	2†					2†									
	3† 3.	3. 1†			1†	4. 3†	4.	3†	1†								
	4† 1† 1†	1† 1.	2†	2†		1†			2†								
	3† 4† 3.	5† 1† 3.	2†	1†	2†		3.	2†		1†							
	1†	5† 2†	7†	2†	2†	2†		2† 1.			1†			1†			
	2.	3.	3.		2.	5.	3.	8.	2.		3.						
		3.	4.	3.		4.	3.	5. 2†	3.		3.	2.					
	1†	5† 3. 4†	5† 3.	7†	4† 3.	2† 2.											
	2†	1† 1†	1†	4†	2†		4.	3†									
	2†	5† 1† 3.	8† 3.	2†		3.		2.									

Embryonen fixiert nach
dem 33. Tag.

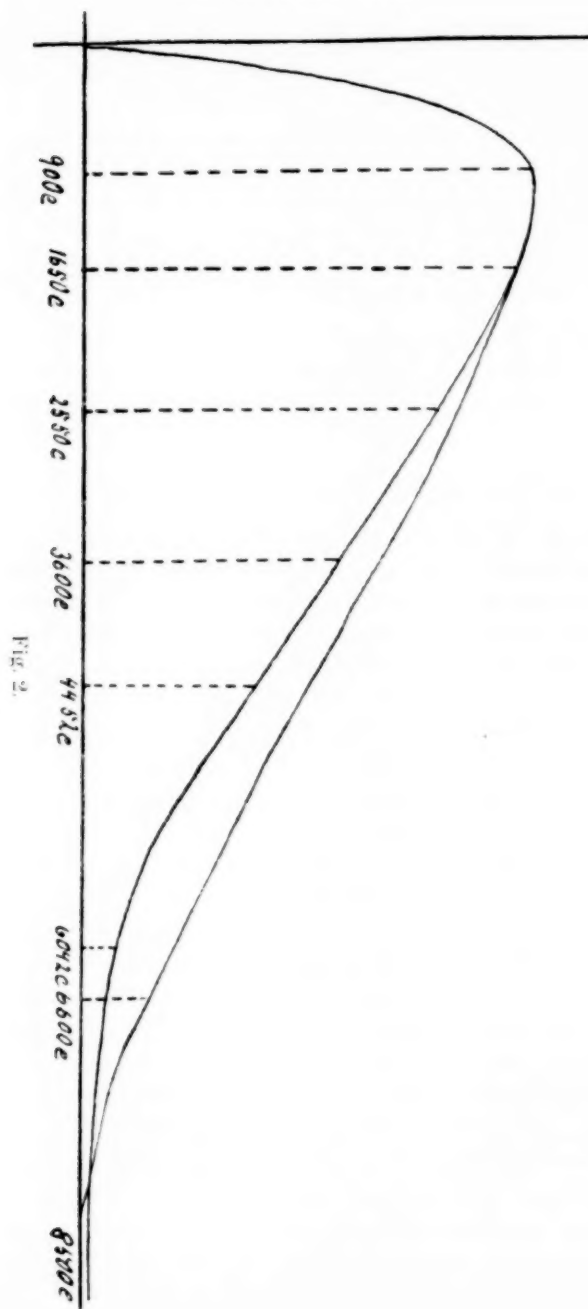


Fig. 2.

wahrscheinlich bei diesen schwächsten Versuchen die Verschmelzung von Ei und Spermakern wie auch die ersten Teilungsvorgänge anormal verlaufen, treten in der späteren Entwicklung die stärksten pathologischen Erscheinungen auf. Sind hingegen den Samenfäden grössere Strahlenmengen zugeführt worden, so verliert der Kern mit stärkerer Bestrahlung immer mehr zunehmend die Fähigkeit, zu wachsen und an den Zellteilungsprozessen in normaler Weise teilzunehmen. Im extremsten Falle wird er an der ganzen Entwicklung überhaupt keinen Anteil mehr nehmen. Er kann somit seinen schädigenden Einfluss nicht mehr geltend machen. Es kommt eine rein mütterliche Entwicklung zustande. Und dies sind dann die Fälle, in denen trotz intensivster Bestrahlung der Samenfäden so gute Embryonen gebildet wurden.

Die völlige Übereinstimmung der Bestrahlungsversuche, die an Frosch- und Forelleneiern ausgeführt wurden, erlaubt es, für die Fälle, in denen O. und G. Hertwig eine parthenogenetische Entwicklung annehmen, auch für unser Objekt diesen Entwicklungsmodus zu vermuten. Handelt es sich wirklich um eine reine Parthenogenese, so entbehren auch die somatischen Zellen des väterlichen Chromatinanteiles: die Zellkerne sind haploid. Nun soll aber die Kerngrösse von dem Gehalte an Chromatin abhängig sein. Es müssten demnach die hier in Betracht kommenden Kerne, da sie nur halbe Chromatinmasse besitzen, auch eine geringere Grösse haben. Von diesen Überlegungen ausgehend wurden eine Reihe von Kernmessungen vorgenommen. Es wurden die Kerne der parthenogenetischen Tiere verglichen mit denen normaler Kontrolltiere. Als Beispiele sollen die Resultate der Messungen gegeben werden, die ein 14 tägiges und ein 33 tägiges Objekt zeigten. Das Objekt vom 14. Tage nach der Befruchtung ist in Taf. V, Fig. 38, abgebildet. Sein Entwicklungsstadium ist schon genauer im ersten Teil beschrieben worden. Hier soll nur noch einmal hervorgehoben werden, dass dieser Embryo sicherlich, wenn auch nur wenig, weiter entwickelt war, als die einen Tag jüngere Kontrolle, bei weitem aber natürlich nicht das Stadium eines einen Tag älteren Normaltieres erreicht hatte. Die pathologischen Erscheinungen waren nur von geringem Grade. Zunächst sollen die Verhältnisse der Anzahl der Kerne von Versuchstier zu der einen Tag jüngeren Kontrolle und der einen Tag älteren Kontrolle gegeben werden, wie es sich auf dem Querschnitt durch

das Rückenmark in gleicher Körpergegend vorfand. Wie folgende Umrisszeichnungen zeigen, ist der Flächeninhalt der drei Rückenmarksquerschnitte ungefähr gleich. Diese sind in allen Fällen der Region der Gehörbläschen entnommen.

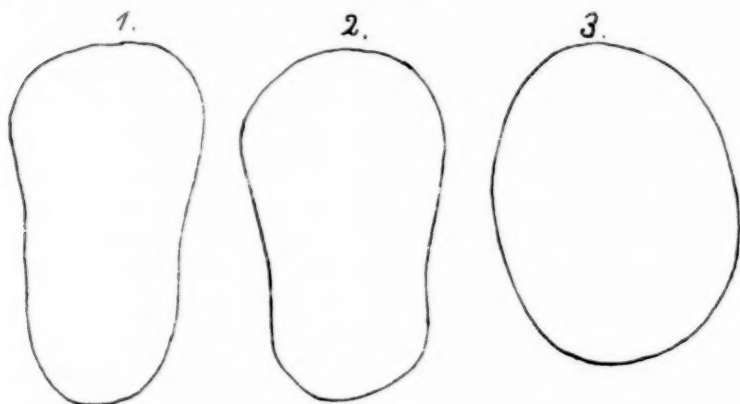


Fig. 3. Vergr.: 220 fach.

Abbildung 1 bezieht sich auf die jüngere Kontrolle, Abbildung 2 auf den Radiumembryo, Abbildung 3 auf die ältere Kontrolle. Es betrug nun die Zahl der Kerne in den angegebenen

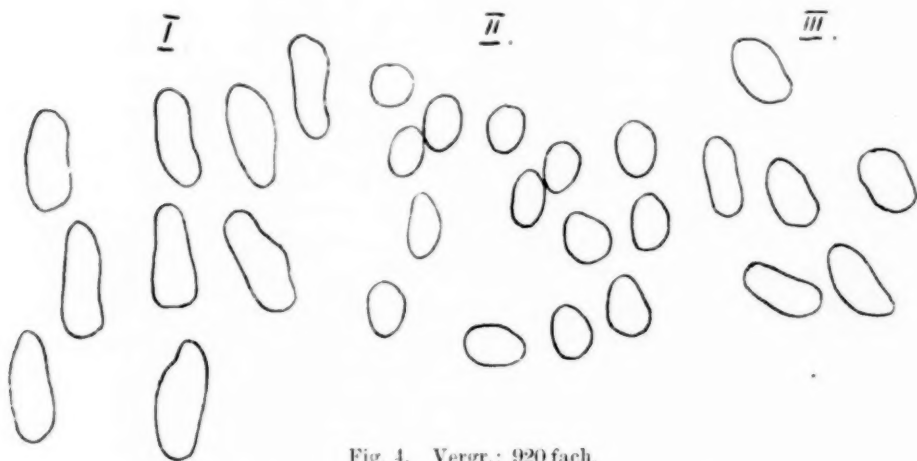


Fig. 4. Vergr.: 920 fach.

Querschnitten für 1 143, für 2 321, für 3 277. Daraus geht hervor, dass die Zahl der Kerne der parthenogenetischen Form

ungefähr doppelt so gross ist wie die des gleichweit entwickelten Kontrollstadiums, und dass sie auch noch grösser ist als die der einen Tag älteren Kontrolle. Wie sich das Zahlenverhältnis für die normale Entwicklung ändert, zeigt der Vergleich der unter 1 und 3 aufgeführten Grössen. Wie sich die Kerngrössen zueinander verhalten, erläutern folgende Umrisszeichnungen.

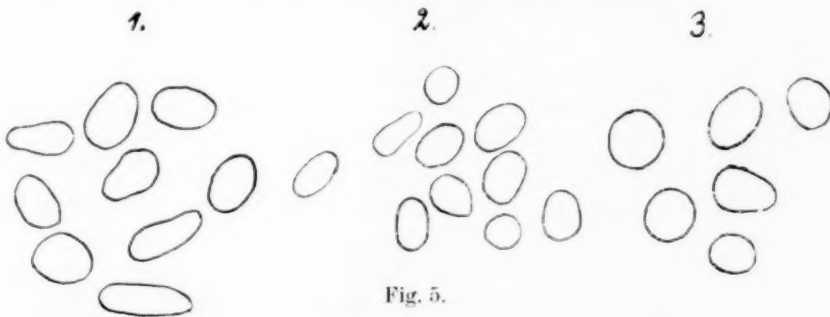


Fig. 5.

Wie vorher, beziehen sich die unter 1 angegebenen Zeichnungen auf das jüngere Kontrollstadium, 2 auf das Versuchstier, 3 auf die einen Tag ältere normale Form. Die Messungen sind an Kernen ausgeführt, die sich auf Schnitten fanden, die durch gleiche Körperregionen gingen. Es ist also der Unterschied der Kerngrösse des parthenogenetischen Tieres ein ganz bedeutender gegenüber den normalen Objekten. Die gleiche Differenz ergibt sich auch für Kerne, die dem Kiemendarm angehören, wenngleich die Unterschiede nicht so erheblich sind.



Fig. 6. Vergr.: 920fach.

Dann seien noch die Resultate von Messungen wiedergegeben, die an einem älteren, ungefähr 33 Tage alten Stadium vorgenommen wurden. Es war dies ein Exemplar, das äusserlich betrachtet ganz normal gestaltet schien. Die Messungen beziehen sich auf Kerne des Rückenmarks, wiederum gleicher Körperregion entnommen.

Zum Schlusse werden noch eine grössere Zahl von Kernen der roten Blutkörperchen abgebildet, die auch in gleicher Weise den Unterschied von Normaltier und parthenogenetischer Larve erkennen lassen.

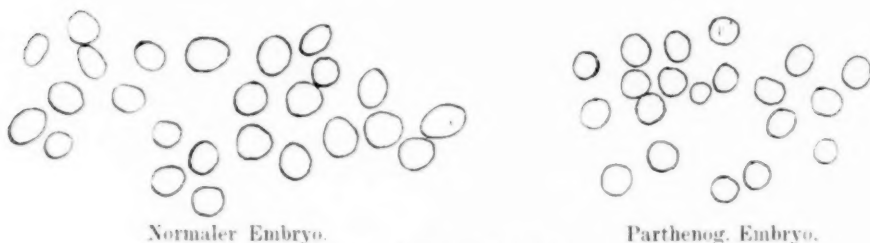


Fig. 7. Vergr.: 920fach.

Spina bifida.

In den beiden folgenden Kapiteln sollen die durch die Bestrahlungsversuche bedingten pathologischen Veränderungen näher betrachtet werden.

Es ist schon hervorgehoben worden, dass als häufige und charakteristische Erscheinungen Spinae bifidae auftraten. Unter dem Namen der Spina bifida ist in der Literatur eine Gruppe von Missbildungen der Wirbeltiere bekannt, deren gemeinsames Merkmal in einer mehr oder minder weitgehenden dorsalen Spaltbildung des Körpers liegt. In einer Darstellung von Missbildungserscheinungen bei Fischen gibt zuerst Lereboullet auch eine Beschreibung von solchen, die ein einfaches Kopf- und Schwanzende und doppelten Rumpf aufwiesen. Für derartig entwickelte Tiere führte Oellacher, der auch eine Untersuchung an Schnittserien lieferte, die Benennung „Mesodidymi“ ein. Als „Katadidymi“ werden von ihm solche bezeichnet, bei denen auch das Schwanzende geteilt ist. Zu diesen älteren, grundlegenden Arbeiten, unter denen noch die von Rauber zu erwähnen wäre, treten aus neuerer Zeit die Angaben über zwei Spaltbilder von Kopsch hinzu.

Alle aus den Bestrahlungsversuchen hervorgegangenen Embryonen mit Spaltbildung des Rumpfes gehören in die Gruppe der Mesodidymi und Katadidymi Oellachers. Es ist bemerkenswert, dass kein Anadidymus zu beobachten war, während gerade in normalen Kulturen dieser Missbildungstypus weitaus häufiger auftritt als die vorher erwähnten. Man wird deshalb nicht fehl-

gehen, wenn man diese Tatsache mit der besonderen Art der Schädigung, die durch die Radiumbestrahlung des Samens bewirkt wird, in Zusammenhang bringt.

Die grösste Zahl der *Spinae bifidae* ist hervorgegangen aus Versuch XIII (2 Std. Mth). Bei zwei Drittel aller fixierten Embryonen dieses Versuches zeigten sich Längsspaltungen des hinteren Körperabschnittes.

In den Versuchen I, II, III (5 Min. R₁, R₂, 1 Min. Mth), in denen ja auch schon erheblich stark geschädigte Embryonen vorkamen, konnte auch nicht eine von den hier in Rede stehenden Missbildungsformen beobachtet werden. In den Versuchen IV, V, VIII traten auch derartige Erscheinungen auf, allerdings, wie es dem Schädigungsgrad dieser Versuche entsprach, an sehr schwach entwickelten Individuen (Taf. V, Fig. 13, 14, 17, 2, 3, 7).

Die im folgenden zu besprechenden, aus einer grösseren Zahl von *Spinae bifidae* ausgewählten Objekte sollen je nach dem Grade der Spaltbildung betrachtet, in drei Gruppen geteilt werden:

1. Solche, bei denen die Trennung der Körperhälften sich unmittelbar in der Region der Gehörbläschen vollzieht.
2. Diejenigen, die eine Längstrennung des Rumpfes erst von der Körpermitte an aufweisen.
3. Den geringsten Spaltungsgrad zeigende Embryonen, bei denen nur das letzte Körperende in zwei Teile gespalten ist.

Für die erste Gruppe in Betracht kommende Typen sind in Fig. 1—8, Taf. V, abgebildet. Schon ausserlich tritt bei allen die sehr tiefgehende Spaltung deutlich sichtbar auf. Sie haben häufig die Gestalt eines Hufeisens. Je einem Aste entspricht eine Körperhälfte. Die Körperenden erscheinen bei den älteren Stadien wieder mehr einander genähert. Die Kopfbildung ist nie sehr deutlich wahrnehmbar. Verhältnismässig am schärfsten ist sie wohl noch bei dem in Fig. 29 abgebildeten Embryo ausgeprägt, trotzdem auch an diesem, bei Betrachtung des Totalobjectes, Gehirndifferenzierungen und Augen nicht zu erkennen waren. In der Besprechung einzelner Fälle soll mit dem letzterwähnten begonnen werden. Er wurde am siebzehnten Tage nach der Befruchtung konserviert und sah noch durchaus wachstumsfähig aus. Die Körperenden waren schon vom Dotter losgelöst und zeigten normale Beschaffenheit. Alle Organe sind doppelt ange-

legt, Rückenmark, Chorda, Darm. Die Trennung des Darmes vollzieht sich zuerst und zwar schon in der Region des Kiemen-darmes. Die Teilungsstelle liegt etwas im Schnitt rechtsseitig verschoben. Ziemlich kompliziert gestaltet sich der Verlauf des Gehirnes, bevor die Trennung in zwei Hälften vollzogen ist. Schon in den vordersten Kopfpartigen weist das Zentralnervensystem insofern eine anormale Beschaffenheit auf, als es ganz nach rechts verschoben erscheint, in völlig gleicher Weise wie es für ein anderes Objekt in Fig. 9, Taf. VI, dargestellt ist. In der Region des Mittelhirns treten nun am dorsalen Rande zunächst nach links, dann unmittelbar danach nach rechts sich lagernd, Faltenbildungen auf als Ausstülpungen vom Ventrikel, wie es ganz ähnlich für ein anderes Objekt, Taf. VI, Fig. 16, gilt. Diese Falten haben einen Hohlraum, und je mehr sie sich lateralwärts ausdehnen, um so mehr verkürzt sich von der unteren, dem Entoderm zugewandten Seite beginnend, der normal gelegene Abschnitt des Rückenmarkes, so dass unmittelbar vor der Teilungsstelle das Gehirn wie ein sehr breit gedrücktes Rohr erscheint, dessen Zentralkanal aber eine Ausdehnung einnimmt, die um 90° gegen die Norm verschoben ist, also horizontal liegt.

In der Region der Gehörbläschen sind, wie die wieder-gegebene Abb. 17, Taf. VI, des Schnittes zeigt, alle unpaaren Organe doppelt vorhanden. Jedes Medullarrohr hat einen Zentralkanal. Jederseits liegt ein normales Gehörbläschen. Chorda und Darm sind auf der rechten Seite bedeutend geringer entwickelt. Diese nur schwach ausgebildete Chorda nimmt einen unregelmässigen Verlauf und verschwindet bald. Auf der linken Seite ist deutlich ein Herz vorhanden, dessen letztes Ende noch auf dem abgebildeten Schnitte zu sehen ist. Für den anderen Teil konnte die Anlage eines Herzens nicht nachgewiesen werden. Über die beiden Rumpfhälften hinweg zieht sich eine dünne Epidermis von nicht immer ganz gleichmässiger Stärke. In dem die Körperenden überbrückenden Teil ist sie mit baumastartig verzweigten Wucherungen besetzt. Solche Wucherungen bei Spaltbildungen sind nicht mit der Radiumbestrahlung in Beziehung zu setzen, denn schon bei Oellacher finden sich gleiche Bildungen wiedergegeben.

Das Studium der mittleren und hinteren Körperpartie lehrt, dass beide Hälften gleich stark entwickelt sind. Die Chorda ist

im rechten Teile nur in einem kleinen Bezirk angelegt. Das Zentralnervensystem nimmt im weiteren Verlauf eine andere Lage ein und zwar so, dass es mit der medialen Seite dem Dotter aufliegt. Bemerkenswert sind Zellhaufen, die wie Spinalganglien der medialen Wand anliegen (Abb. 17, Taf. VI). Diese Zellhaufen finden sich auch dann noch wieder, wenn das Medullarrohr von der normalen in die oben beschriebene Lage übergegangen ist, und kommt dann so als längsverlaufender Streifen zwischen Dotter und Rückenmark zu liegen.

Beide Körperenden sind vom Dotter abgehoben. Genau vom gleichen Typus sind Embryonen, die in Taf. V, Fig. 28, 30, 31, abgebildet sind und sämtlich etwas älter waren (19, 20, 22 Tage). Ein Unterschied liegt nur in der schon am Totalobjekt deutlich auftretenden Ungleichmässigkeit der Körperhälften (Fig. 25, 26, 28, 30, 31).

Während in den bisher erwähnten Fällen das Stadium des Dotterlochschlusses schon erreicht war, sollen im folgenden noch kurz einige jüngere Exemplare beschrieben werden.

Taf. V, Abb. 27, zeigt einen Embryo, der am gleichen Tage und aus gleicher Kultur konserviert wurde wie die in Fig. 33, 38 wiedergegebenen (Kontrolle Fig. 39, Taf. V).

Von einer Kopfbildung konnte weder am Totalobjekt, noch an der Schnittserie etwas wahrgenommen werden. Eine Umwachsung des Dotters hatte stattgefunden; sie war noch nicht ganz vollendet. Beide Körperhälften sind nur sehr gering ausgebildet.

Eine Sonderung des Randringmaterials in zwei Teile ist vorhanden; ob es sich aber dabei um eine Differenzierung in

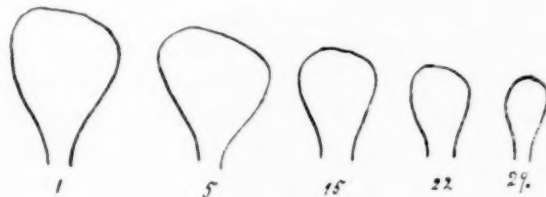


Fig. 8.

Muskelplatten und Rückenmark handelt, ist nicht sicher zu entscheiden. Darm, Wolffsche Gänge, Chorda sind nicht nach-

weisbar. Wie erheblich aber dennoch der Unterschied an Masse der Schwanzknospe gegenüber dem Umwachsungsrand ist, können folgende Umrisszeichnungen erläutern; diese stellen in der Serie einen Schnitt 1, 5, 15, 22, 29 dar.

Stadien vom elften Tage sind in Fig. 24 und 25 abgebildet. Auf die innere Organisation soll nicht weiter eingegangen werden.

Die zweite Gruppe von Spaltbildungen, bei denen also die Teilung der unpaaren Organe in eine linke und rechte Hälfte erst in der Mitte des Rumpfes erfolgt, umfasst in einer Auswahl die Objekte 32–36. Im allgemeinen erreichen die Embryonen dieser Gruppe ein weiter entwickeltes Organisationsstadium als die der vorigen Abteilung. Sie haben eine bedeutendere Körpergrösse. Die Bildung der Augen und des Gehirnes ist mehr der Norm entsprechend.

Von den bisher betrachteten Formen stellen die Embryonen 33 und 34 auch insofern abweichende Verhältnisse dar, als das hintere Körperende wieder verwachsen ist, also zwei Mesodidymi nach der Bezeichnung Oellachers. Bei Embryo 33 ist das Körperende noch nicht abgehoben. Die Umwachsung des Dotters ist gerade vollendet (Kontrolle Fig. 39). Die beiden Schwanzknospen haben sich wieder vereinigt, aber ein weiteres einheitliches Längenwachstum hat noch nicht stattgefunden. Am weitesten

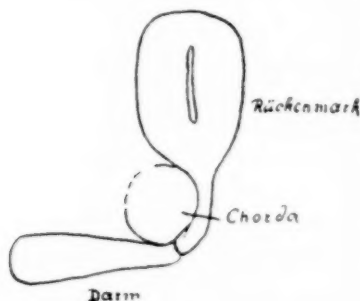


Fig. 9

kranialwärts reicht die getrennte Anlage des Darmes. Die Chorda findet sich nur auf einer Körperhälfte entwickelt. Vor der Trennungsstelle des Rückenmarkes rückt sie etwas nach der (bildlich) linken Seite und wird durch einen schmalen Fortsatz des Medullarrohres seitlich begrenzt. Es kann auch zu einer völligen Umfassung des Chordastranges dadurch kommen, dass,

wie nebenstehender Umriss zeigt, auch das Entoderm einen derartigen Ausläufer bildet, der mit dem des Rückenmarkes in direkte Verbindung tritt. Es ist aber eine solche Umfassung immer nur auf kleine Körperbezirke beschränkt. Unmittelbar nach der Trennung des Entoderms tritt auch die Spaltung des

Rückenmarkes ein (acht Schnitte à 5 μ). Der wiedergegebene Schnitt zeigt die nur einseitige Ausbildung der Kupfferschen Blase (Fig. 6, Taf. VI). Es findet sich noch auf der linken, stärker entwickelten Hälfte ein unmittelbar vor der Kupfferschen Blase auftretender, im Querschnitt kreisrunder Zellkomplex. Dieser dürfte wohl den von Kopsch als „regenerierte Muskelplatten“ bezeichneten Bildungen entsprechen. An dem Parallelobjekt (Taf. V, 38, Schnitt Taf. VI, 7) konnte die gleiche Erscheinung festgestellt werden.

Ein weiteres Entwicklungsstadium des eben besprochenen Objektes würde Embryo Taf. V, Fig. 34, darstellen. Dieser wurde fixiert am 18. Januar, war also 19 Tage alt, während der vorige aus derselben Kultur am 13. Januar konserviert wurde. Die wiedervereinigten Schwanzknospen haben ein Längenwachstum begonnen. Das Körperende ist schon vom Dotter gelöst. Die inneren Organisationsverhältnisse werden durch vier Abbildungen illustriert (Taf. VI, Fig. 12, 16, 15, 11), auf deren Erklärung an entsprechenden Stellen eingegangen wird. Auch hier teilt sich zunächst der Darm schon unmittelbar hinter der Region der Gehörbläschen. Die Chorda ist auch hier nur auf einer Seite vorhanden. Der Beginn zur Trennung des Rückenmarkes erfolgt erst ungefähr in der Mitte des Rumpfes. Eigentümlich sind die Einschlüsse von losen Zellen im Dotter. Diese Zellen tragen ganz den Charakter der Zellen des intermediären Gewebes. In jeder Hälfte ist ein Rückenmark, ein Darmrohr, ein Wolffscher Gang, eine Muskelplatte und die intermediäre Zellschicht sehr deutlich entwickelt (Taf. VI, Fig. 11). Das hintere Körperende zeigt wieder das unpaare Nervenrohr, die medianen Wände sind nicht mehr zu erkennen.

Die Ausbildung völlig symmetrischer Körperhälften zeigt Fig. 35, Taf. V. Hier ist auch die Chorda rechts und links gleich stark entwickelt. Dies gilt in gleicher Weise von den übrigen Organen, Darm und Zentralnervensystem. Interessant ist der Trennungsvorgang des Darmes. Das letzte Ende des Herzschlauches wird scheinbar von einer genau in der Symmetrieebene auftretenden hügelartigen Vorwölbung des Dotters in zwei nicht ganz gleiche Teile gespalten. Der Kiemendarm, der sich medianwärts zusammenzieht, wird durch diesen Dotterhügel eingeschnürt, wie es die Skizze zeigt, und dies stellt den Beginn zur völligen

Spaltung in zwei Teile dar. Die Trennung der Organe vollzieht sich in der Reihenfolge, kaudalwärts fortschreitend: Darm, Chorda, Rückenmark.

Einer kurzen Erläuterung bedarf noch Embryo 36, Taf. V. Er war 27 Tage alt und stellt somit das älteste untersuchte

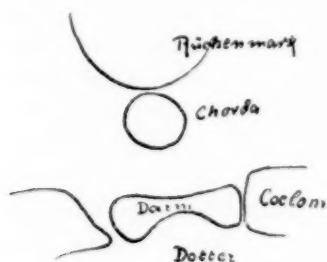


Fig. 10.

Stadium der Spaltbildungen dar. Auch in diesem Falle handelt es sich um eine echte Spaltbildung. Jeder Teil repräsentiert eine Körperhälfte, nur der Grössenunterschied, wie er ja auch schon bei Vertretern der in der ersten Gruppe besprochenen Objekte auftrat, ist hier sehr bedeutend. Dennoch enthält diese kleinere Partie

Rückenmark, Muskelplatten, einen Wolffschen Gang und ein Darmrohr.

Die zur dritten Gruppe Taf. V, 37, 38, 40, 41 zusammengefassten Objekte zeigen den geringsten Grad der Spaltung. Nur das letzte Ende des Körpers ist in zwei Teile zerlegt. In der Grösse stimmen sie fast mit denen überein, die keine Spaltung zeigen. Es soll nur auf Embryo 2 etwas näher eingegangen werden. Die Organisationsverhältnisse werden durch drei Schnittbilder erläutert (Taf. VI, 18, 5, 7). An dieser Stelle interessiert nur Abb. 7. Dieser Schnitt ging durch die Körpergegend, in der die Teilung noch nicht ganz vollendet war. Es gliedert sich die (bildlich) rechte Muskel- und Seitenplatte und ein kleinerer Teil des Rückenmarkes ab. Eine Kupffersche Blase sowie Chorda ist nur links vorhanden.

Eine besondere Stellung unter den bisher beschriebenen Spaltbildungen nehmen zwei Radiumtiere ein, von denen das eine Taf. V, Fig. 23, abgebildet ist. Bei beiden Objekten war die eine Körperhälfte gar nicht vorhanden (Taf. VII, 4 und 7).

Embryo 23, Taf. V, liess, als Totalobjekt betrachtet, wenig auffällige Merkmale erkennen. Nur zeigte sich eine tiefe Furche, die den Körper durchzog. Die mikroskopische Untersuchung lehrte, dass ein wohl entwickeltes Gehirn vorhanden war, nur nahm es nicht seine normale Lage ein, sondern lag, wie Fig. 5, Taf. VII, zeigt, um fast 90° nach rechts gegen die natürliche Stellung ge-

dreht, so dass nun auch die Augenbläschen nicht rechts und links, sondern dorsal und ventral angelegt waren. Das Entoderm ist mehr nach links gerückt und nimmt insofern eine der Norm mehr entsprechende Lage ein, als es, wie naturgemäss, senkrecht zur Richtung des Rückenmarkes liegt.

Das interessante Moment ist nun, dass das Rückenmark spätestens in der Region des Gehörbläschens seine normale Richtung angenommen hat, also eine Drehung um 90° nach links vollzieht; das Entoderm dagegen behält seine ursprüngliche Lage bei; es findet sich also dann nicht ventral, sondern seitlich vom Rückenmark und fehlt demnach völlig auf der anderen Seite; desgleichen sind auch Mesoderm, Chorda und Gehörbläschen nur auf der einen Seite vorhanden. Schnitt 7, Taf. VII, geht durch die Mitte des Körpers. Rückenmark, Muskelplatten, Chorda, Darm, intermediäre Zellmasse, Wolffscher Gang und Coelom sind deutlich vorhanden und ganz normal gebildet. Die Epidermis legt sich nicht unmittelbar den Organen an, sondern verläuft so, als ob auch die fehlende Rumpfhälfte vorhanden wäre. Die Schnitte durch das letzte Körperende gehen nicht mehr genau senkrecht, dadurch werden dort die Verhältnisse etwas unübersichtlich.

Wie schon am Anfang erwähnt, fanden sich noch bei einem zweiten Objekt genau die gleichen Organisationsverhältnisse.

Fig. 6, Taf. VII, zeigt wieder die fast horizontale Lagerung der vorderen Gehirnpartien; es wird nur das nach der Oberfläche zu gelegene Auge gebildet. Das Entoderm liegt genähert dem basalen Ende des Medullarrohres, wieder annähernd senkrecht zur Richtung des Gehirns. Nun vollzieht sich wieder genau der gleiche Prozess wie im vorher beschriebenen Falle. Das Zentralnervensystem hat wiederum in der Region der Gehörbläschen seine normale Lage eingenommen, während das Entoderm rechts liegen blieb. Fig. 4, Taf. VII, zeigt, dass auch hier nur ein Gehörorgan vorhanden ist; die Chorda ist ganz normal; rechts davon liegt das meso- und entodermale Gewebe. Lose, unregelmässig gelagert, fanden sich Zellen in dem Raum zwischen dem Dotter und dem Rumpf. Auch hier liegt die Epidermis nicht unmittelbar dem Körper an, sondern umschliesst links einen Hohlraum. Auf der linken Seite ist der Coelomsack sichtbar. Mehr kaudalwärts gelegene Schnitte lieferten Bilder, die den für den vorigen Fall beschriebenen völlig gleichen.

Die völlige Übereinstimmung dieser beiden eben beschriebenen Fälle lässt vermuten, dass wir es hier mit einem ganz bestimmten Entwicklungsmodus zu tun haben. Es ist indessen nicht zu entscheiden, ob aus der eigentümlichen Lage des Gehirnes zum Entoderm die Ausbildung von nur einer Körperhälfte erfolgt, oder ob wegen des Vorhandenseins von nur einer Rumpfseite das Gehirn seine normale Lage völlig aufgibt.

Schädigungen der Organisation der Embryonen, hervorgerufen durch Bestrahlung der zur Befruchtung normaler Eier verwendeten Spermien.

Es bleibt nun noch übrig, zu zeigen, in welcher Weise sich die Folgen des experimentellen Eingriffs in den einzelnen Organismen geltend machen.

Somit sollen im folgenden die Resultate der mikroskopischen Untersuchung wiedergegeben werden, die sich auf die Beschaffenheit des Zentralnervensystems, der Sinnesorgane, Muskelplatten, Chorda, Darm, Nierensystem beziehen.

Will man eine Gruppierung nach den Schädigungsgraden vornehmen, wie sie sich im Gehirn vorfanden, so wären zu unterscheiden diejenigen Fälle, bei denen sich die Störungen vorwiegend in einer Lageveränderung zeigen, von solchen, bei denen neben dieser auch noch grosse Massen zugrunde gegangener Zellen in den Geweben zu finden sind.

Der zuerst charakterisierte Typus stellt den schwächeren Schädigungsgrad dar, der vor allem für Versuch I (5 Min. R₁), II (7 Min. R₂), III (1 Min. Mth) und Versuch XIII (2 Std. Mth) kennzeichnend war.

Bereits in der Darstellung des Verlaufes der Versuche wurde häufig darauf hingewiesen, dass schon bei Betrachtung der Objekte mit Lupenvergrösserung eine laterale Verschiebung von Vorder- und Mittelhirn zu beobachten war, während das Nachhirn seine normale Lage beibehielt. Diese Verhältnisse erläutern z. B. deutlich die Flächenbilder Fig. 33, 34, 35, Taf. V, oder 6 I, während bei vielen anderen Objekten, die im wesentlichen die gleichen Bildungen zeigen, erst durch das Studium der Schnittserie eine genaue Erkenntnis möglich war.

Im allgemeinen bestehen die schwächeren Grade der Verlagerungserscheinungen darin, dass ein dorsaler Abschnitt des

Medullarrohres gegen den normal gerichteten ventralen um einen mehr oder minder erheblichen Winkel geneigt erscheint (Fig. 18, Taf. VI). Dabei kann als weitere Komplikation eintreten, dass das Gehirn ganz an eine Seitenfläche des Körpers zu liegen kommt (Taf. VI, Fig. 16). Das Extrem wird durch eine Drehung des ganzen Medullarrohres dargestellt (Taf. VII, Fig. 5 und 6). Mit dieser Lage des Gehirnes ist immer eine eigentümliche Organisation des Körpers verbunden (*Hemiembryones laterales*).

Welcher Typus aber auch vorliegen möge, immer hat das Zentralnervensystem in der Region der Gehörbläschen seine völlig normale Lage wieder eingenommen.

Einige spezielle Betrachtungen sollen die Verhältnisse näher erläutern. Fig. 33, Taf. V, zeigt einen Embryo, dessen Vorder- und Mittelhirn an die Seite gerückt ist, das Auge liegt rein dorsal. Die wirkliche Organisation wird aber ohne weiteres durch die beiden wiedergegebenen Schnittbilder klar, Taf. VI, Fig. 18 und 5. Der erste Schnitt (Fig. 18) zeigt die Region vor den Augenbläschen. Der unterste Abschnitt des Gehirnrohres steht normal, während der übrige Teil gegen den ersteren um fast 90° geneigt erscheint. Der zweite abgebildete Schnitt (Fig. 5) geht durch das linke Augenbläschen (am Objekt also rechts), während das andere nicht entwickelt ist. Die Gesamtrichtung des Gehirnbläschens ist schon etwas mehr der Norm entsprechend, aber immerhin ist die Neigung noch so stark, dass der obere Rand des Augenbläschens (die Einstülpung des vorderen Randes ist noch nicht erfolgt) mit der dorsalen Begrenzungsfläche des Nervenrohres fast in gleicher Höhe zu liegen kommt. Die entodermale Keimschicht liegt ganz normal. Schnitte, die durch die Gehörbläschen gehen, zeigen in jeder Beziehung völlig normale Beschaffenheit.

Ein älteres Stadium repräsentiert Embryo Taf. V, Fig. 34. Im Abschnitt über die *Spina bifida* ist von diesem Exemplar schon ausführlicher die Rede gewesen. Es wurde fixiert am 19. Tage nach der Befruchtung. Auch in diesem Falle zeigt das Flächenbild, wie unmittelbar kranialwärts vom Gehörorgan das Gehirn eine scharfe Biegung nach rechts macht und sich dann über die ganze Kopffläche ausbreitet. Drei Abbildungen erläutern die Verhältnisse, Taf. VI, Fig. 12, 15, 16. Während zwischen den beiden Hörbläschen das Rückenmark noch seine normale Stellung

inne hat, beginnt es mehr nach dem Kopfe zu sich nach links zu drehen (Fig. 15), so dass, jemehr es an Ausdehnung zunimmt, der Zentralkanal fast horizontal gerichtet ist. Am rechten Ende beginnt nun senkrecht zu dieser Richtung, jetzt also normal gerichtet, sich eine Faltung bemerkbar zu machen, so dass Schnitte, die durch die vordere Partie des Mittelhirnes gehen, Bilder liefern, wie sie in Fig. 16 dargestellt sind. In der Region der Augenbläschen ist dann der horizontal gerichtete Teil völlig geschwunden, und hat jetzt das Hirnbläschen eine fast normale Richtung, nur liegt es ganz nach rechts gerückt. Das Auge ist lediglich auf der linken Seite entwickelt.

Um nun noch den leichtesten Grad des hier in Rede stehenden Missbildungstypus des Gehirnes kennen zu lernen, sei auf Verhältnisse verwiesen, wie sie beim Embryo Taf. V, Fig. 45, auftraten. Dieser sah äusserlich gut gestaltet aus, nur waren Mittel- und Vorderhirn am Totalobjekt nicht deutlich analysierbar. Die Untersuchung der Schnittserie lehrte, dass auch hier wieder sich ein oberer Abschnitt gegen einen unteren, normal gerichteten geneigt hatte. Dass hier nur ein geringerer Störungsgrad vorlag, äusserte sich auch darin, dass in diesem Falle beide Augenanlagen zur Entwicklung kamen (Fig. 3, Taf. VI).

Die zweite Gruppe von Verlagerungserscheinungen des Gehirnes zeigt das Vorder- und Mittelhirn, mit der Gesamtseitenwand der Dotteroberfläche zugewendet liegend. Es bildet also dieser Missbildungstypus einen Gegensatz zu dem vorher besprochenen dadurch, dass nun auch der basale Gehirnabschnitt seine normale Lage aufgegeben hat (Taf. VII, Fig. 5 und 6). In diesen Fällen kommen Embryonen zur Entwicklung, bei denen die eine Körperhälfte überhaupt nicht angelegt wird. Erwähnt sei noch einmal, dass auch für diese Verlagerungsverhältnisse im Gebiete des Gehörorgans normale Richtungszustände zu finden sind (Fig. 4, Taf. VII).

Von dem vorherbeschriebenen Typus zu diesem letzteren finden sich auch Übergangsstadien. Als ein derartiges käme die Organisation des Embryo 20, Taf. V, in Betracht. Abb. 8, Taf. VI, zeigt, dass das Medullarrohr in seiner ganzen Höhe gedreht erscheint, dass das Entoderm seine normale Lage senkrecht zum Hauptdurchmesser des Nervenrohres beibehält. Der Kiemendarm erreicht daher auf der (bildlich) rechten Seite nicht mehr das

Ektoderm: es könnte also auch dort nicht mehr zur Bildung der Kiemenspalten kommen. Schon in der mittleren Rumpfparte ist die Organisation dieses Embryos normal.

Aus diesen Betrachtungen geht also auch hervor, dass die eigentümlichen Lageverhältnisse des Gehirnes zweier Embryonen (Taf. VII, Fig. 5 und 6) nur als das Extrem eines durch viele Übergangsstufen verbundenen Missbildungstypus aufgefasst werden können. Wie auch immer das Zustandekommen solcher Hemiembryones laterales gedacht werden möge, so besteht die Tatsache, dass mit einer wie oben beschriebenen Lage des Gehirnes und Entoderms die Ausbildung der einen Körperhälfte unterbleibt.

Alle bisher beschriebenen Fälle wurden zu der Kategorie der leichteren Schädigungen des Zentralnervensystems zusammengefasst.

Diesen gegenüber stehen die in den Gruppen II, III, IV beobachteten Erscheinungen. Das nervöse Gewebe ist schon ziemlich stark in Zerfall übergegangen, und zwar finden sich derartige Zerfallserscheinungen schon bei jüngeren Stadien (Fig. 15, Taf. V). Abb. 10, Taf. VI, zeigt den Zentralkanal angefüllt von zugrunde gegangenen Zellen. Entweder sind die Zellen schon völlig zerfallen oder es ist noch der Kern in der Form eines homogen färbbaren, meist kugelförmigen Körperchens erhalten. Auch innerhalb des Gewebes liegen die abgestorbenen Zellen. Die gleiche Abbildung zeigt auch, wie vorwiegend das Nervenrohr von dem Zerfall betroffen wird; dann folgen die Muskelplatten. Fast völlig gut erhalten bleiben immer Darm, die Wolffschen Gänge und die Chorda.

In unmittelbarem Zusammenhange mit der Ausbildung des Gehirnes steht die der Augen. Es kann das Entwicklungsstadium der Augen geradezu als Gradmesser für den allgemeinen Zustand des betreffenden Embryos angesprochen werden. Zeigt das Gehirn schon schwere Störungen. (Versuch IV), so werden Augen überhaupt nicht mehr angelegt. Beruhte die Schädigung nur in einer Gehirnverlagerung, so konnte eine Augenbildung vor sich gehen. Fig. 3, Taf. VI, lässt erkennen, dass trotz der Biegung des oberen Hirnabschnittes beide Augen schon mit einer Linse versehen vorhanden sind. Bei stärkerer Krümmung wird nur ein Auge gebildet (Taf. VI, Fig. 5), und zwar immer das der Krümmung entgegengesetzte (Fig. 12, Taf. VI). Eine Linse wird immer nur

dann gebildet, wenn die äussere Wand des Augenbläschens die Epidermis erreicht. Ein typisches Beispiel für diese Verhältnisse bietet Fig. 5, Taf. VII. Eine Linse hat nur das Auge, das unmittelbar der Epidermis anlag. Das andere ist auf einem gering entwickelten Bläschenstadium stehen geblieben. Man sieht noch die beiden Lamellen. Von einer Linsenanlage ist nichts zu bemerken.

Bedeutend günstiger ist die Entwicklung der Gehörbläschen Angelegt werden sie immer, auch bei den stark geschädigten Objekten. Fast stets erhalten sie auch ein Lumen. Unterschiede machen sich immer erst mit dem Beginn der Bildung der Bogengänge bemerkbar. Diese kommt nur selten bei den schwach geschädigten Exemplaren über die Anlage von geringen Vorwölbungen der Innenwand des Bläschens hinaus. Das Gehörbläschen bleibt stets frei von zerfallenen Zellen, während der Augenbecher immer, auch bei den bestentwickelten näher untersuchten Embryonen, wenigstens an der Eintrittsstelle des N. opticus, ziemlich erheblich in Zerfall übergegangen ist. Fig. 3, Taf. VII, veranschaulicht diese Verhältnisse. Fig. 1 zeigt das Kontrollstadium. Deutlich wahrnehmbar ist das Chiasma opticum, während auf dem anderen Schnitte nur wenige Nervenfasern des N. opticus vorhanden sind. Im Gegensatz dazu scheint die Innervierung des Gehörorgans weitaus mehr der Norm entsprechend zu sein.

Nächst dem Zentralnervensystem und den Sinnesorganen zeigte das Muskelsystem die stärksten Schädigungen. Bei etwas stärker geschädigten Formen macht sich schon auf frühen Stadien Zerfall der Gewebe in ziemlich erheblichem Maße bemerkbar. Zum grossen Teil werden die Zellen in den Hohlraum zwischen Muskelplatten und Epidermis ausgestossen. Bei Embryonen, die ein entsprechendes Alter erreichen, kommt es zur Bildung von Muskelfasern. Häufig sind diese ganz normal gestaltet, geradlinig verlaufende Bündel, die sich an den Segmentenden trichterförmig in die einzelnen Fasern auflösen. In der Mehrzahl der untersuchten Fälle jedoch waren die Muskelbündel nur sehr dünn, weniger zahlreich und verliefen unregelmässig geschlängelt.

In den übrigen Geweben fanden sich nur wenig abweichende Verhältnisse.

Sofern es sich nicht um Spaltbildungen handelte, zeichnete sich die Chorda, auch bei stärker geschädigten Tieren, durch gute

Beschaffenheit von den vorher besprochenen Organen aus. War bei den Spaltbildungen jedoch die Chorda in erheblich ungleiche Teile zerlegt, so nahm der schwächere immer einen sehr unregelmässigen, gewundenen Verlauf, bohrte sich häufig in den Dotter, in einem Fall auch in das Nervenrohr (Fig. 13, Taf. VI) ein. Sie war nur sehr kurz.

Vom Darm und den Urnierengängen ist nur wenig zu berichten. Sie stellen immer die am günstigsten entwickelten Organe dar.

Vergleich der Versuchsergebnisse mit ähnlichen Experimenten O. und G. Hertwigs.

Wie schon mehrfach im Verlauf der Darstellung zu ersehen war, stimmen die bei den Forellenversuchen gemachten Beobachtungen in allen wesentlichen Punkten völlig überein mit denen, die O. und G. Hertwig bei den entsprechenden Froschexperimenten feststellen konnten.

Vor allem wird das Gesetz der Kurvenbildung neu bestätigt. Bei beiden Objekten wird schon durch eine relativ sehr geringe Energie der Sperma- resp. Eikern derartig geschädigt, dass die Lebensdauer der sich bildenden Embryonen nur wenige Tage beträgt. Wird der Samen, mit dem normale Eier befruchtet werden, sehr intensiv bestrahlt, so kommt es zur Entwicklung parthenogenetischer Larven, die sich sehr lange Zeit züchten liessen (bis zu 52 Tagen bei der Forelle). Dass es sich in diesen Fällen wirklich um Tiere handelt, die von nur einem Elterntier abstammen, konnte indirekt durch die Resultate der Kernmessungen bewiesen werden. Auch G. Hertwig gibt in seiner neuesten Arbeit 1913 Kernzeichnungen normaler und parthenogenetischer Froschlarven wieder, aus denen in deutlichster Weise der Grössenunterschied ersichtlich wird.

In einen gewissen Gegensatz zu den Frosch- und Forellenversuchen treten die Experimente, die G. Hertwig an Seeigeln ausführte, insofern, als bei diesen trotz stärkster Bestrahlung der Samenfäden die Entwicklung nicht wieder einen besseren Verlauf nimmt. G. Hertwig, der auch bei diesem Objekte erste Furchungsphasen untersuchte, fand, dass eine Verschmelzung der beiden Vorkerne nicht unmittelbar, spätestens aber auf dem Zwei- oder Vierzellenstadium vor sich ging. Daher konnte auch noch der

Radiumkern seine vergiftende Wirkung in beträchtlichem Maße zur Geltung bringen. Alle Larven starben nach 48 Stunden. Die Resultate der Forellenversuche hingegen sind die gleichen, wie sie auch für die Radiumfroschexperimente gefunden wurden. Es wird auch für unseren Fall anzunehmen sein, dass, wie es G. Hertwig bei seinen Untersuchungen (1911) aussprach, wahrscheinlich eine völlige Elimination des Radiumchromatins erfolgt, wenn die Samenfäden in stärkstmöglicher Weise bestrahlt werden. Was die pathologischen Veränderungen als solche anbetrifft, so kann auch bezüglich dieses Punktes völlige Übereinstimmung zwischen beiden Objekten konstatiert werden. Als stärkerer Schädigungsgrad sind bei Frosch und Forelle Spina bifida-Bildungen sehr häufig, die nach O. Hertwig durch unvollkommenen Urmundschluss entstehen. Die Differenzierung der beiden Randringhälften ist nicht immer ganz gleichmässig. So kommt es häufig zur Ausbildung völlig unsymmetrischer Körper.

Dass sich die Schädigungen, die an den einzelnen Organen beobachtet werden können, hauptsächlich auf das zentrale Nervensystem, die Augen, die Muskelplatten beziehen, steht auch im Einklang mit den Ergebnissen der Experimente anderer Autoren, die den Einfluss der Radiumstrahlen auf die Entwicklung der Organe untersuchten.

Zusammenfassung.

1. Für die Einwirkung der Radiumstrahlen auf die Spermien der Forelle gilt das Gesetz der Kurvenbildung, wie es zuerst von O. und G. Hertwig für die Radiumversuche an den Keimen von *Rana esculenta* gefunden wurde.
 - a) Bestrahlungen der Samenfäden während 5 Min. mit R_1 (= 37,5 e), 7 Min. R_2 (37,2 e), 1 Min. Mth (55 e) bedingen, wenn sie zur Befruchtung normaler Eier verwendet werden, schwache Schädigung des Entwicklungsproduktes.
 - b) Alle Versuche, in denen Spermien $\frac{1}{2}$ Std. mit R_1 (= 225 e), $\frac{1}{2}$ Std. mit R_2 (= 159 e), 5 Min. Mth (= 275 e), 1 Std. R_1 (= 450 e), 2 Std. R_1 (= 900 e), 3 Std. R_2 (= 954 e), $\frac{1}{2}$ Std. Mth (= 2750 e), 8 Std. R_1 (= 3600 e), 8 Std. R_2 (= 2544 e) bestrahlt wurden, sind durch das Auftreten einer Sterbepériode gekennzeichnet, die

immer am 13. Tage nach der Befruchtung beginnt und sich ungefähr über 9 Tage erstreckt.

c) Wird der Samen eine Stunde R_1 (= 450 e), 2 Std. R_1 (= 900 e) oder 3 Std. R_2 (= 954 e) bestrahlt, so können gar keine oder nur äusserst geringe Ansätze zur Embryobildung beobachtet werden.

β) In allen übrigen Fällen, also bei Bestrahlung während $\frac{1}{2}$ Std. R_1 (= 225 e), $\frac{1}{2}$ Std. R_2 (= 159 e), 5 Min. Mth (= 275 e), 8 Std. R_1 (3600 e), 8 Std. R_2 (= 2544 e) kommt eine deutliche Embryobildung zustande.

c) Bei zweistündiger Bestrahlung des Samens mit Mth (= 6600 e) lassen sich die Kulturen bis zum 31. Tage nach der Befruchtung züchten.

d) Wird Samen 19 Stunden mit R_2 (6042 e) oder R_1 (7980 e) bestrahlt, so entstehen fast normal entwickelte Embryonen, die bis zu 52 Tage alt werden.

2. Durch das lange Stehen des Samens an sich (19 Std.), tritt eine Herabsetzung der Widerstandsfähigkeit der Spermien gegen die Strahlen des Radiumbromids ein, so dass durch eine Bestrahlung während 19 Std. mit R_2 (also nur 6042 e) die Spermien in höherem Maße geschädigt werden als durch zweistündige Bestrahlung mit Mth (6600 e).

3. Die aus denjenigen Bestrahlungsversuchen hervorgegangenen Embryonen, bei denen die Samenfäden 2 Std. mit Mth (= 6600 e), 19 Std. mit R_2 (= 6042 e) oder R_1 (7980 e), sind als parthenogenetisch entwickelte Tiere zu betrachten.

a) Sie sind kleiner als das gleiche Kontrollstadium.

b) Sie besitzen eine deutlich wahrnehmbare, geringere Kerngrösse als gleichweit entwickelte normale Keimlinge.

4. Als schwächerer Missbildungstypus treten Spina bifida-Bildungen auf.

a) Die Spaltung erstreckt sich entweder bis in die Region der Gehörbläschen oder bis zur Mitte des Rumpfes oder betrifft nur das hintere Körperende.

b) Die Ausbildung der Körperhälften ist in den seltensten Fällen spiegelbildlich gleich.

c) Stets waren Rückenmark, Darm, intermediäre Zellmasse von der Teilung betroffen.

d) Die Chorda ist meist nur einseitig entwickelt.

- e) Die Kupffersche Blase war stets nur auf einer Seite vorhanden.
 - f) Die Spaltung der Organe findet fast immer statt in der Reihenfolge (kaudalwärts fortschreitend): Darmblatt, Chorda, Rückenmark.
 - 5. Zwei Fälle konnten beobachtet werden, in denen die eine Körperhälfte überhaupt nicht angelegt wurde, so dass nur ein Gehörbläschen, eine Muskelplatte, ein Wolffscher Gang, wie auch Rückenmark, Darm, Chorda, in der Einzahl vorhanden waren.
 - 6. Die durch die Radiumbestrahlung des zur Befruchtung normaler Eier verwendeten Samens hervorgerufenen Schädigungen der embryonalen Organisation äussern sich vorwiegend im Rückenmark, den Augen und den Muskelplatten.
 - a) Geringere Schädigung lediglich durch Verlagerungserscheinungen im Gehirn.
 - b) Stärkere Schädigung durch Zerfall der Gewebe. Die Zellkerne ballen sich zu kleinen, sich intensiv färbenden homogenen Kugeln zusammen.
 - 7. Die Resultate der Bestrahlungsversuche an Forellenspermien stehen in völligem Einklang mit den von O. und G. Hertwig an den entsprechenden Froschversuchen erzielten Resultaten.
- Zum Schlusse fühle ich mich verpflichtet, für die freundliche Unterstützung und die gütigen Ratschläge, die mir bei der Ausführung vorliegender Untersuchungen durch Herrn Geheimen Medizinalrat Prof. Dr. O. Hertwig sowie durch Herrn Prof. Poll gewährt wurden, meinen besten Dank auszusprechen.

Literaturverzeichnis.

- 1. Bataillon, E.: Le problème de la fécondation circonscrit par l'imprégnation sans amphimixie et la parthénogénèse traumatique. Arch. de zool. Exp., Tome 6, Nr. 2, 1910.
- 2. Boveri, Th.: Ergebnisse über die Konstitution der chromatischen Substanz des Zellkernes. Jena 1904.
- 3. Fischel, Alfred: Über den gegenwärtigen Stand der experimentellen Teratologie. Verhandl. d. deutsch. path. Ges., Bd. V.
- 4. Herbst, C.: Vererbungsstudien. IV. und VI. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 22, 1906 und Bd. 27, 1909.

5. Hertwig, G.: Radiumbestrahlung unbefruchteter Froscheier und ihre Entwicklung nach Befruchtung mit normalem Samen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 77, Abt. II, 1911.
6. Derselbe: Das Schicksal des mit Radium bestrahlten Spermachromatins im Seeigelei. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 79, Abt. II, 1912.
7. Derselbe: Parthenogenesis bei Wirbeltieren, hervorgerufen durch artfremden radiumbestrahlten Samen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 81, Abt. II, 1913.
8. Hertwig, O.: Urmund und Spina bifida. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 39, 1892.
9. Derselbe: Die Radiumstrahlung in ihrer Wirkung auf die Entwicklung tierischer Eier. Mitteilung vom 15. Juli 1909. Sitzungsber. d. Kgl. Preuss. Akad. d. Wiss., XI, 1910.
10. Derselbe: Neue Untersuchungen über die Wirkung der Radiumstrahlung auf die Entwicklung tierischer Eier. Mitteilung vom 28. Juli 1910. Sitzungsber. d. Kgl. Preuss. Akad. d. Wiss., XXXIX, 1910.
11. Hertwig, O.: Die Radiumkrankheit tierischer Keimzellen. Bonn, Fr. Cohen, 1911.
12. Derselbe: Mesothoriumversuche an tierischen Keimzellen, ein experimenteller Beweis für die Idioplasmanatur der Kernsubstanzen. Mitteilung vom 6. Juli 1911. Sitzungsber. d. Kgl. Preuss. Akad. d. Wiss., XL, 1911.
13. Derselbe: Veränderung der idioplasmatischen Beschaffenheit der Samenfäden durch physikalische und chemische Eingriffe. Sitzungsber. d. Kgl. Preuss. Akad. d. Wiss., XXXI, 1912.
14. Hertwig, Paula: Durch Radiumbestrahlung hervorgerufene Veränderung in den Kernteilungsfiguren der Eier von *Ascaris megalocephala*. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 77, Abt. II, 1911.
15. Kopsch, Fr.: Experimentelle Untersuchungen über den Keimhautrand der Salmoniden. Verhandl. d. Anat. Ges., 1896.
16. Derselbe: Entwicklung der äusseren Form der Forellenembryonen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 51, 1898.
17. Derselbe: Die Organisation der Hemididymi und Anadidymi der Knochenfische und ihre Bedeutung für die Theorien über Bildung und Wachstum des Knochenfischembryo. Monatsschr. f. Anat. u. Phys., Bd. 16, H. 10, 1899.
18. Derselbe: Untersuchungen über Gastrulation und Embryobildung bei den Chordaten. Leipzig 1904.
19. Lereboullet: Recherches sur les monstruosités du Brochet. Ann. des Sc. nat., Tome 20, 1863.
20. Oellacher, T.: Terata mesodidyma von *Salmo salvelinus*. Sitzungsber. d. Wiener Akad., Math.-naturw. Kl., Bd. 68, 1873.
21. Rauber, A.: Formbildung und Formstörung in der Entwicklung der Wirbeltiere. Morph. Jahrb., Bd. 5, 1879.
22. Ziegler, H. E.: Entwicklungsgeschichte der niederen Wirbeltiere.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel V—VII.**Zeichenerklärung:**

Ch == Chorda.	J == intermediäre Zellmasse.
Coe == Coelom.	KB == Kupffersche Blase.
D == Darm.	A == Augenlinse.
G == Gehörorgan.	R == Rückenmark.
H == Herz.	Wog == Wolffscher Gang.

Die in Taf. V—VII abgebildeten Embryonen sind alle in 8facher Vergrößerung gezeichnet, mit Ausnahme der Fig. 18 und 19 (20fache Vergrößerung).

Tafel V.

Fig. 1—10. Versuch I, II, III.

Fig. 1: 15 Tage alt, Versuch I. Fig. 2: 20 Tage alt, Versuch II.
 Fig. 3: 14 Tage alt, Versuch III. Fig. 4: 14 Tage alt, Versuch III.
 Fig. 5: 18 Tage alt, Versuch I. Fig. 6: 18 Tage alt, Versuch III.
 Fig. 7: 32 Tage alt, Versuch II. Fig. 8: 31 Tage alt, Versuch I.
 Fig. 9: 20 Tage alt, Versuch I. Fig. 10: 33 Tage alt, Versuch II.

Fig. 11—17. Versuch IV, V, VI.

Fig. 11: 18 Tage alt, Versuch IV. Fig. 12: 18 Tage alt, Versuch IV.
 Fig. 13: 14 Tage alt, Versuch V. Fig. 14: 14 Tage alt, Versuch VI.
 Fig. 15: 19 Tage alt, Versuch VI. Fig. 16: 18 Tage alt, Versuch IV.
 Fig. 17: 14 Tage alt, Versuch IV.

Fig. 18 und 19. Versuch VII.

Fig. 18: 14 Tage alt. Fig. 19: 13 Tage alt.

Fig. 20—23. Versuch XI, XII.

Fig. 20: 16 Tage alt, Versuch XI. Fig. 21: 14 Tage alt, Versuch XI.
 Fig. 22: 19 Tage alt, Versuch XII. Fig. 23: 23 Tage alt.

Fig. 24—45. Versuch XII.

Fig. 24: 11 Tage alt. Fig. 25: 11 Tage alt. Fig. 26: 13 Tage alt.
 Fig. 27: 14 Tage alt. Fig. 28: 19 Tage alt. Fig. 29: 17 Tage alt.
 Fig. 30: 20 Tage alt. Fig. 31: 22 Tage alt. Fig. 32: 13 Tage alt.
 Fig. 33: 14 Tage alt. Fig. 34: 19 Tage alt. Fig. 35: 17 Tage alt.
 Fig. 36: 27 Tage alt. Fig. 37: 11 Tage alt. Fig. 38: 14 Tage alt.
 Fig. 39: 15 Tage alt (Kontrolle). Fig. 40: 18 Tage alt. Fig. 41:
 19 Tage alt. Fig. 42: 19 Tage alt (Kontrolle). Fig. 43: 21 Tage
 alt. Fig. 44: 20 Tage alt. Fig. 45: 20 Tage alt.

Fig. 46. Versuch XV. 44 Tage alt, mit Kontrolle.

Tafel VI.

Fig. 1 und 2. Zwei Schnitte durch den Nebenembryo des in Taf. V, 4 abgebildeten Tieres. 146fache Vergrößerung

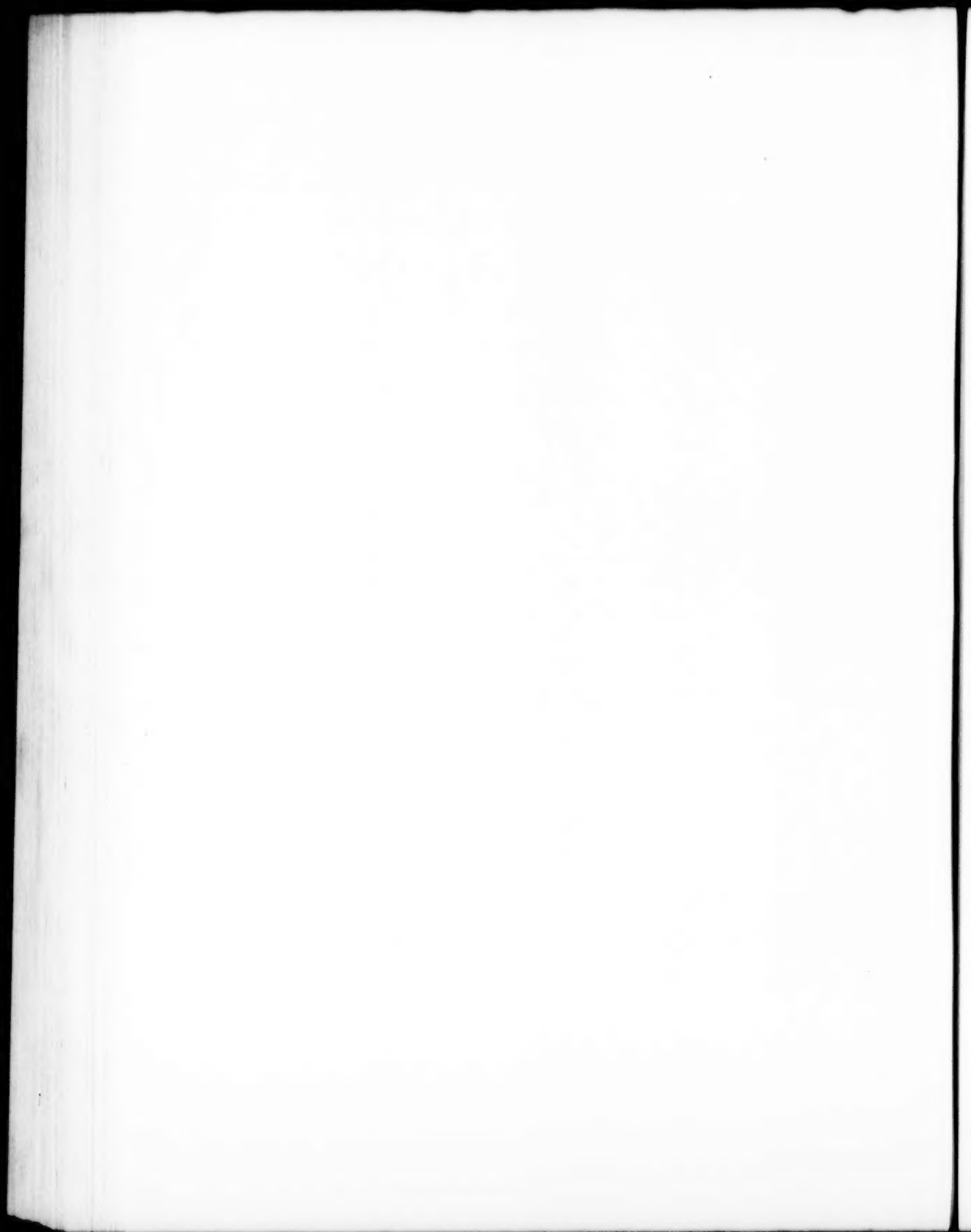
Fig. 3. Augengegend von Embryo 45, Taf. V. 82fache Vergrößerung.

Fig. 4. Schnitt durch die in Taf. V, 35 abgebildete Spina bifida. 82fache Vergrößerung.

- Fig. 5. Schnitt durch die vordere Kopfpartie des in Fig. 33, Taf. V abgebildeten Embryos. 103fache Vergrößerung.
- Fig. 6. Schnitt durch das Körperende des gleichen Objektes. 103fache Vergrößerung.
- Fig. 7. Schnitt durch das Körperende von Embryo 38, Taf. V. 103fache Vergrößerung.
- Fig. 8. Querschnitt durch den in Taf. V, 20 abgebildeten Embryo. 82fache Vergrößerung.
- Fig. 9. Schnitt durch die Augengegend von Embryo 29. 82fache Vergrößerung.
- Fig. 10. Schnitt durch die Gegend des Gehörorgans von Embryo 15, Taf. V. 82fache Vergrößerung.
- Fig. 11. Querschnitt durch die mittlere Rumpfpattie von Embryo 34, Taf. V. 82fache Vergrößerung.
- Fig. 12. Querschnitt durch den Kopf des gleichen Objektes. 82fache Vergrößerung.
- Fig. 13. Schnitt durch den Kopf des in Fig. 3, Taf. V abgebildeten Embryos. 82fache Vergrößerung.
- Fig. 14. Querschnitt durch die Schwanzgegend des in 10, Taf. V abgebildeten Tieres. 82fache Vergrößerung.
- Fig. 15. Querschnitt durch den Kopf von Embryo 34, Taf. I.
- Fig. 16. Querschnitt etwas weiter rostralwärts wie Fig. 15. Beide 82fache Vergrößerung.
- Fig. 17. Schnitt durch die in Taf. V, 29 abgebildete Spina bifida. 82fache Vergrößerung.
- Fig. 18. Querschnitt durch die vordere Kopfpartie von Embryo 33, Taf. V. 103fache Vergrößerung.

Tafel VII.

- Fig. 1. Querschnitt durch die Augengegend eines Kontrolltieres; 33 Tage alt. 82fache Vergrößerung.
- Fig. 2. Augengegend des in Taf. V, 10 abgebildeten Embryos.
- Fig. 3. Augengegend eines parthenogenetischen Embryos; Alter: 33 Tage. Fig. 2 und 3 in 82facher Vergrößerung.
- Fig. 4. Querschnitt durch die Gegend des Gehörorgans.
- Fig. 5. Schnitt durch die Augengegend von Embryo 23, Taf. V.
- Fig. 6. Schnitt durch die Augengegend des gleichen Objektes wie Fig. 4. Fig. 4 und 6 beziehen sich auf ein ganz ähnliches Objekt, wie es in Fig. 23, Taf. V dargestellt ist.
- Fig. 7. Schnitt durch die mittlere Körperpartie von Embryo 23 (wie Fig. 5). Fig. 4—7 in 82facher Vergrößerung.



Aus dem Biologischen Institut der Universität Berlin.

Über die Spermio- und Oogenese der Sclerostomum= Arten des Pferdes unter besonderer Berück= sichtigung der Heterochromosomenforschung.

Von
Kurt Kühnz.

Hierzu Tafel VIII—X und 8 Textfiguren.

Einleitung.

Die zahlreichen Arbeiten, die seit der Mitte des vorigen Jahrhunderts auf dem Gebiete der Entwicklungsgeschichte der Nematoden erschienen sind und die durch die Erforschung der feinsten chromatischen Details bei den in der Entstehung begriffenen Geschlechtszellen so überaus interessante Resultate von grösster Tragweite gezeitigt haben, lassen eine abermalige Bearbeitung der Spermio- und Oogenese eines Nematoden a priori vielleicht als wenig lohnend und Erfolg versprechend erscheinen.

Da jedoch der bei weitem grösste Teil der Autoren sein Interesse dem durch die erfolgreichen Untersuchungen von Benedens, O. Hertwigs und Boveris geradezu zu einem klassischen Untersuchungsobjekt gewordenen *Ascaris megalocephala* zugewandt hat, so rief nicht allein der Mangel an weiterem Vergleichungsmaterial als besonders die epochemachende Entdeckung eines sogenannten Geschlechts- oder Heterochromosoms bei Arthropoden durch Mc. Clung, Montgomery und Wilson und die Beobachtungen Boveris und seiner Schüler, dass gleiche oder ähnliche Verhältnisse auch bei Nematoden vorlägen, zu einer erneuten Bearbeitung der Spermio- und Oogenese an anderen Nematoden unter besonderer Berücksichtigung dieses neuen Gesichtspunktes.

Durch Herrn Geheimrat O. Hertwig wurde ich auf die gerade erschienene Arbeit Gulicks aus dem Würzburger Zoologischen Institut aufmerksam gemacht, dem es als ersten ge-

lungen war, den vollständigen Kreislauf eines Geschlechtschromosoms bei einigen Nematoden lückenlos festzustellen.

Es sei mir vergönnt, an dieser Stelle Herrn Geheimrat Hertwig sowie Herrn Professor Dr. R. Krause für die mannigfachen Anregungen und das stete Interesse, das sie meiner Arbeit jederzeit in liebenswürdigster Weise entgegenbrachten, meinen aufrichtigsten Dank auszudrücken.

Dem berechtigten Gedanken Herrn Geheimrat Hertwigs folgend, dass die so bemerkenswerte Arbeit Gulicks einer möglichst baldigen Nachuntersuchung bedürfe, prüfte ich zuerst einen Teil derselben auf ihre Richtigkeit, und zwar wählte ich aus dem von Gulick benutzten Material *Strongylus paradoxus*, da dieser Parasit jederzeit reichlich in Schweinelungen anzutreffen ist.

Ich will hier nur ganz kurz bemerken, dass sich meine Untersuchungen hauptsächlich auf die Spermiogenese beschränkten und dass ich insoweit die Angaben Gulicks sowohl hinsichtlich der Chromosomenzahl als auch betreffs der ungleichen ersten Reifeteilung nur bestätigen kann.

Da ich jedoch das Material wegen der grossen Kleinheit der Chromosomen keineswegs für das geeignetste bei der Erforschung so feiner Details hielt, wandte ich meine Aufmerksamkeit bald den im Pferdedarm schmarotzenden *Sclerostomiden* zu.

Bevor ich jedoch in medias res gehe, möchte ich nicht versäumen, Herrn Professor Dr. Poll, der mich auf diese hinsichtlich der Spermio- und Oogenese überhaupt noch nicht untersuchte Nematodengattung aufmerksam machte, für diesen freundlichen Hinweis meinen besten Dank zu sagen.

Das Material.

Wie schon oben erwähnt, wählte ich für meine Untersuchungen die in geschlechtsreifem Zustand im Coecum und Colon des Pferdes und Esels schmarotzenden *Sclerostomiden*. Da die einzelnen Spezies jedoch nur zeitweilig im Darm anzutreffen sind, so dehnte ich meine Beobachtungen über ein ganzes Jahr aus.

Auf eine historische Zusammenstellung der Arbeiten, die uns über das Vorkommen und die Morphologie dieser Familie unterrichten, kann ich Verzicht leisten, denn wir besitzen durch die Dissertation Pöppels schon einen bis zum Jahre 1897 reichenden, umfassenden Literaturnachweis.

Ich kann mich daher auf die letzten 15 Jahre beschränken und werde nur kurz frühere Arbeiten streifen, um die zahlreichen Synonyma, mit denen unsere Parasiten belegt worden sind, zur allgemeinen Orientierung hervorzuheben.

Während von älteren Autoren wie Mehlis, Dujardin, Anton Schneider und Zürn nur zwei Spezies, nämlich *Strongylus* s. *Sclerostomum* (*armatum*) *equinum* und *tetracanthum*, morphologisch eingehend beschrieben worden sind, die sich schon rein äusserlich durch ihre Grösse unterscheiden lassen sollten, hat Ende der neunziger Jahre des vorigen Jahrhunderts eine weitere Aufspaltung der Arten stattgefunden.

Pöppel war 1897 der erste, der erkannte, dass *Sclerostomum armatum* (Rud.) keine einheitliche Spezies darstelle und teilte sie, indem er auf den alten Namen *Strongylus* wieder zurückgriff, in *Strongylus armatus* und *Strongylus neglectus* nov. spec.

Looss, der seine Untersuchungen 1900 in Ägypten anstellte, spaltete von *Sclerostomum armatum* (Rud.) abermals eine neue Spezies, *Sclerostomum edentatum*, ab. Er wählte als Gattungsnamen wieder *Sclerostomum*, verwarf aber ausserdem die von Pöppel gegebene Speziesbenennung mit folgender Begründung: „Es erhellt nun bereits aus den Grössenverhältnissen der beiden Arten ohne weiteres, dass die letztere, die von Pöppel als nov. spec. betrachtet wurde, dem *Strongylus armatus* Rudolphi entspricht, denn dieser soll nach Rudolphi selbst 2—3 Zoll messen; diese Form also hätte den alten Namen *Rudolphi* zu behalten, wenn dieser seinerseits nicht wieder zugunsten des noch älteren *equinum* zu fallen hätte.“ Pöppels *armatus* dagegen entspricht den *Proles Rudolphi* und erhält die neue Speziesbezeichnung *Sclerostomum vulgare*. Von diesen drei Arten trennte Looss ferner *Sclerostomum tetracanthum* völlig ab und verweist diese Spezies wegen der andersartigen Mundkapselbildung in die von Molin aufgestellte Familie der *Cyathostomiden*. Nach seinen Angaben lässt sich *Cyathostomum tetracanthum* mindestens wieder in acht Spezies, vielleicht teilweise auch nur Varietäten teilen. Seine Beobachtungen sind jedoch, wie gesagt, in Ägypten gemacht und bedürfen für Deutschland noch einer näheren Prüfung.

Zu gleicher Zeit werden durch die eingehenden Untersuchungen von Haase, Olt und Sticker die komplizierten biologischen Verhältnisse der *Sclerostomiden* — ihr periodisches

Auftreten in den Gekrösarterien als Larven und als geschlechtsreife Tiere im Darm — aufgedeckt und Sticker ist es auch, der 1901 wiederum neue Speziesnamen gibt; und zwar unterscheidet er in einer Abhandlung *Sclerostomum armatum majus* und *minus*, die er einmal als Arten, einmal als Varietäten bezeichnet, während er über *Strongylus neglectus* Pöp. kein Urteil zu fällen wagt. Eine gleiche Einteilung in *majus* und *minus* lässt er *Sclerostomum tetracanthum* widerfahren. In einer anderen Arbeit, die gleichfalls 1901 erschien und die sich den Untersuchungen von Looss anlehnt, gibt Sticker abermals neue Namen, indem er unterscheidet *Sclerostomum edentatum*, *bidentatum* und *quadridentatum*, entsprechend den drei Spezies Looss'.

1910 schliesslich bestätigt O. Martin das Vorkommen von *Sclerostomum edentatum* Looss in Hamburg und führt noch eine reichliche Literatur auf, aus der mehr oder minder klar hervorgeht, dass *Sclerostomum edentatum* auch anderwärts in Deutschland beobachtet worden ist.

Ich lasse nun der Übersicht halber nochmals die in der Literatur vorkommenden Synonyma folgen (siehe S. 195).

Um eine vollständige Zusammenstellung der bislang bekannt gewordenen Sclerostomiden zu geben, seien hier ausser der schon Rudolphi bekannten Spezies *dentatus* aus dem Schwein noch zwei weitere Spezies erwähnt, nämlich *Sclerostomum apiostomum* Willach und *Sclerostomum robustum* Giles, die jedoch beide insofern für uns weniger Interesse haben, da sie weder von anderen Forschern noch von mir je in Deutschland beobachtet worden sind.

Sclerostomum apiostomum fand Willach 1891 bei einem Makak; die Spezies soll durch die birnenförmige Mundkapsel leicht kenntlich sein.

Sclerostomum robustum dagegen soll in der Grösse zwischen *Sclerostomum armatum* und *tetracanthum* stehen und wurde 1892 von Giles in Kalkutta bei Mauleseln beobachtet. Die Spezies ist charakterisiert durch „three powerful exactly similiar teeth“, welche befestigt sind „in a sort of sheath-like pocket of the pharyngeal wall. . . . They are probable capable of being protruded“.

Sticker gibt am Ende seiner Arbeit an, dass man die geschlechtsreifen Würmer vom Dezember bis Juli im Darm des Pferdes fände, wobei sich freilich die Angabe betreffs des Juli nur auf eine einzige Beobachtung stütze.

Strongylus equinus Müller 1780	
Strongylus armatus Rudolphi 1801	
Sclerostoma ¹⁾ (?) Blainville 1828 [Sclerostome du cheval]	
Strongylus armatus Mehlis 1831	Strongylus tetracanthus Mehlis 1831
Sclerostoma equinum Dujardin 1845	Sclerostoma tetracanthum
Sclerostomum armatum Diesing 1851	Sclerostomum tetracanthum
Strongylus neglectus Pöppel 1897	Strongylus armatus Pöppel 1897
Sclerostomum armatum majus et minus Sticker 1901	Sclerostomum tetracanthum majus Sticker 1901 et minus Sticker 1901
Sclerostomum edentatum Looss 1900	Sclerostomum equinum Looss 1900
Sclerostomum edentatum Looss 1900	Sclerostomum quadridentatum Sticker 1901
	Sclerostomum vulgare Looss 1900
	Sclerostomum bidentatum Sticker 1901
	Cyathostomum Looss 1900

¹⁾ Nach einer Angabe von Blainville aus dem Jahre 1828 soll Rudolphi die Bezeichnung Sclerostoma gebraucht haben. Nach einer anderen Angabe von Diesing (1851) soll Rudolphi sowohl Sclerostoma wie Sclerostomum verwandt haben. Da ich jedoch beide Namen in den Werken Rudolphis nicht angetroffen habe, sondern nur die Familienbezeichnung Sclerostomata, so kann ich die Frage, ob Sclerostoma oder Sclerostomum der Vorzug zu gehen ist, nicht entscheiden.

Ich kann seine Statistik im grossen und ganzen bestätigen, wenn ich nur *Sclerostomum equinum* Looss und vulgare Looss berücksichtige, obwohl ich auch hier schon am 21. November Pärchen in copula fand. *Sclerostomum edentatum* Looss konnte ich dagegen wie Martin auch in anderen Monaten beobachten. Es ist somit höchst auffällig, dass Sticker, obgleich er bei Aufstellung seiner Statistik den Unterschied zwischen *equinum* und *edentatum* noch nicht kannte, von August bis Dezember „keine Darmwürmer“ dieser Gattung beobachtet haben will.

Da ich die drei grösseren hier in Deutschland vorkommenden Arten zur Bearbeitung meines Themas heranzog und nicht einmal betreffs der Zellgrösse so durchgreifende Unterschiede fand, die eine getrennte Besprechung lohnend erscheinen liessen, so werde ich im Verlauf der Arbeit allgemein nur von *Sclerostomum* reden und nur an denjenigen Stellen, wo sich Arteigentümlichkeiten offenbaren, die Speziesbezeichnungen nach Looss hervorheben.

Die Behandlung des Materials.

Die Behandlung des Materials stösst auf mancherlei Schwierigkeiten, und ich sehe mich daher gezwungen, etwas genauer darauf einzugehen, als es sonst üblich ist.

Von frisch geschlachteten Pferden wurde das Coecum und Colon rasch geöffnet und die an der Darmwand festgesaugten *Sclerostomiden* vorsichtig abgezogen. Bleibt der Darm erst längere Zeit liegen und kühlt ab, so lassen die Würmer selbst los und werden dann im Darminhalt schwimmend gefunden. Hierauf macht schon Olt aufmerksam, und es zeigt dies, wie empfindlich diese Parasiten auf Temperaturschwankungen reagieren. Stärkere Abkühlungen rufen nicht allein Schrumpfung der zarten Geschlechtsorgane hervor, sondern führen sogar zu Unregelmässigkeiten bei der Befruchtung der Eier, die ich später noch eingehend zu schildern haben werde.

Da ich das Material nicht an Ort und Stelle fixieren konnte, verwandte ich mit bestem Erfolge ein Thermophor, das mit dem warmen, flüssigen Darminhalt gefüllt wurde. Hierin lebten die Parasiten, im Thermostaten auf 35° gehalten, bis zu 2 Tagen. Nach dieser Zeit gehen sie wahrscheinlich an Nahrungsmangel zugrunde, denn der sonst von aufgesogenem Blut rot gefärbte Darm erscheint hellgelb und völlig leer.

Die von Pöppel angegebene Methode, die Würmer in 0,75proz. Kochsalzlösung bei Zimmertemperatur zu halten, erscheint mir nicht empfehlenswert, da sie zu wenig den natürlichen Lebensbedingungen der Parasiten entspricht.

Da die Cuticula sehr dick ist, so muss sie unter allen Umständen entfernt werden und zwar gleich von Anfang an, da das Material nach der Fixation brüchig wird. Die von Gulick angewandte Methode, die Genitalorgane mittels einer kleinen Kautschukwalze herauszupressen, versagt hier jedoch besonders bei *Sclerostomum edentatum* und *equinum* gänzlich. Denn der Darm und die Genitalorgane sind durch ein dichtes, wenngleich feines Mesenterialgewebe mit dem Hautmuskelschlauch innig verbunden und lösen sich selbst bei wiederholtem Walzen nur teilweise ab; auch halte ich die Manipulation im allgemeinen nicht für ganz einwandfrei, denn die zarten Geschlechtsorgane müssen hierbei zweifellos stark beschädigt werden.

Ich steckte daher die Würmer mit je einem Igelstachel durch Kopf und Schwanz auf Wachsplatten fest, ohne Kochsalzlösung oder dergleichen hinzuzusetzen. Erstere ist jedenfalls ungeeignet, denn ich konnte häufig das Platzen befruchtungsreifer Eier unter dem Mikroskop beobachten. Waren die Würmer aufgesteckt und dabei zugleich etwas gestreckt worden, so stach ich vorsichtig mit einem besonders feinen Skalpell — ich benutzte hierzu ein Augenoperationsmesser nach Gräfe — in die Cuticula hinein und zwar dicht neben einer der durchschimmernden Seitenlinien. Es erwies sich als praktisch, vom Kopf aus gegen den Schwanz hin unter möglichst horizontaler Haltung der Messerscheide zu schlitzen und es gelang dann nach einiger Übung gewöhnlich den ganzen Cuticular- und Hautmuskelschlauch in einem Zuge zu öffnen. War dies geschehen, so wurde der eine Rand des Schlauches mit einem Igelstachel in der Mitte festgeheftet, der Darm am Hinterende durchschnitten und nun mit den daranhängenden Geschlechtsorganen über den freien Rand mittels flachgehaltenen Skalpells hinübergeschoben. Sodann wurde der Hautmuskelschlauch in Höhe des Ösophagus durchtrennt, so dass nach der Fixation mittels der Mundkapsel eine Speziesbestimmung leicht erfolgen konnte. Beim Weibchen hat man noch die Vagina zu durchschneiden, doch dauert die ganze Operation kaum eine Minute. Der Darm bleibt während der

ganzen weiteren Behandlung erhalten und dient zugleich als Stütze der sehr feinen Geschlechtsröhren. Wie schon aus Zürns Figuren zu ersehen, ist die Hodenröhre und ihr Ausführungsgang ein gewundener Schlauch und verläuft so, dass ihr blindes Ende in die Nähe des Ductus ejaculatorius zu liegen kommt.

Meine Untersuchungen stellte ich teils an lebendem Material, teils an Ausstrichen, die in Osmiumsäuredämpfen fixiert wurden, zum grössten Teil aber an Schnittpräparaten an.

Als Fixationsflüssigkeiten wurden hierzu gebraucht: Zenker und Flemming¹⁾ sowie Carnoy, Pikrinsublimatessig, Helly (Müllersche Flüssigkeit 50 ccm + 2 1/2 g Sublimat heiss zugesetzt + 5 ccm Formalin 40proz.) und Bouin (75 T. konz. wässrige Pikrinsäure, 20 T. 40proz. Formalin und 5 T. Eisessig). Erstere beiden besonders für die Untersuchung der Chromatinveränderungen in den Mitosen der Männchen; bei reifen Eiern versagten jedoch beide ihren Dienst, denn diese enthalten einerseits zu viele sich durch Osmiumsäure stark färbende Bestandteile, andererseits werden die winzigen Mitosen bei der Bildung der Richtungskörper durch das Sublimat verklumpt und lassen keine distinkte Färbung zu. Ich möchte hier besonders auf die Bouinsche Flüssigkeit aufmerksam machen, mit der ich bei den so schwer zu fixierenden Eiern vorzügliche Resultate erzielte.

Die weitere Behandlung des Materials verlief nach der gewöhnlichen, genügend bekannten Methode, indem die Objekte durch die Alkoholstufen über Chloroform, Chloroform-Paraffin (aa.) in Paraffin gebracht wurden. In Chloroform-Paraffin wurden die Objekte über Nacht bei 35° gelassen, während ich das heisse Paraffin von 58° nicht länger als 2 Stunden einwirken liess.

Von Färbemethoden kam Heidenhain, Safranin, Böhmers Hämatoxylin und Hämalan sowie an Ausstrichen Giemsa- und May-Grünwald-Lösungen mit Erfolg zur Anwendung. Die besten Ergebnisse erzielte ich aber vor allen Dingen bei nach Bouin fixiertem Material mit der Gramschen Färbung,²⁾ die

¹⁾ Flemming: 15 Teile 1proz. Chromsäure, 4 Teile 2proz. Osmiumsäure, 1 Teil Eisessig.

²⁾ Zur Gramschen Färbung benutzt man 2 Lösungen:

a) 1 gr Gentianaviolett aufgelöst in 40 ccm 95% Alkohol + 5 ccm Anilin und aufgefüllt mit aq. d. auf 300 ccm.

b) 1 gr Jod aufgelöst in 2 gr Jodkaliumlösung, aufgefüllt mit aq. d. auf 300 ccm.

Die Schnitte werden horizontal liegend 1 Minute mit a gefärbt, kurz

nach meiner Meinung noch viel zu wenig bei Chromatinuntersuchungen in Mitosen angewandt wird. Es wundert mich dies um so mehr, als Flemming selbst schon gesagt hat: „Gentianaviolett gibt bei ganz derselben Anwendung wie Safranin an Chromsäurepräparaten fast noch schönere und schärfere Kerntinktionen wie dies“. Jedenfalls ist die Färbung auch bei Pikrinsäurepräparaten schärfer als die Heidenhainsche und bringt eine bedeutende Zeitersparnis mit sich, wenngleich ich bei Flemming-Material die Farbe etwas länger einwirken lassen musste.

Die Rhachisbildung bei Männchen und Weibchen.

Bevor ich zur Besprechung der eigentlichen Spermio- und Oogenese übergehe, werde ich vorerst die Befestigungs- und Ernährungsstätte der Geschlechtszellen, die Rhachis, schildern. Die Ausbildung derselben ist jedoch beim Männchen und Weibchen so verschieden, dass ich sie getrennt darstellen werde, obwohl ich mich in manchen Punkten dabei wiederholen muss.

a) Die männliche Rhachis.

Ein Querschnitt durch die Hodenröhre kurz hinter ihrem blinden Ende zeigt im Zentrum eine unregelmässig polygonale Figur, von der zwei bis vier feine Stränge peripher ausstrahlen. Es ist die Rhachis mit ihren Hauptlamellen, die sich ihrerseits dichotom verzweigen. Ich werde auch bei Querschnitten, dem Beispiele Hertwigs folgend, von Lamellen anstatt von Ästen sprechen, weil letzterer Ausdruck leicht zu falschen Vorstellungen Anlass gibt.

Bei der Frage nach dem Ursprung der Rhachis bin ich leider ebensowenig wie Schneider und A. Mayer zu einem positiven Resultat gekommen; doch fand ich die von Schneider zuerst betonte Erscheinung — dass nämlich die Rhachis verschieden weit zum blinden Ende der Geschlechtsröhre vordringt und dies wiederum mit der Entwicklung der Geschlechtszellen selbst in ursächlichem Zusammenhang steht — auch bei Sclerostomum bestätigt. So zeigte sich z. B. bei einem Serienquerschnitt

mit aq. d. abgespült, 1 Minute mit b gefärbt, dann 15 Sekunden differenziert in 95% Alkohol, 5 Sekunden in abs. Alkohol, dann in Xylol.

durch den Hoden die Rhachis schon nach ungefähr $15\ \mu$ in ihrer typischen Gestalt (Taf. VIII, Fig. 1), während sie bei anderen Schnitten erst nach etwa $40-70\ \mu$ nachweisbar war.

Zugleich richtete ich mein Augenmerk auf die an *Ascaris megalcephala* beobachteten Rhachiskerne, konnte jedoch anfangs trotz sorgfältiger Durchsicht der Schnittserien keinen einzigen derartigen Körper entdecken, bis ich zuletzt auf ein Männchen stiess, dessen Rhachis mehrere Kerne aufwies, die in gewissen unregelmässigen Abständen aufeinander folgten (Taf. VIII, Fig. 13). Gerade dieses sporadische Auftreten besagter Kerne liess mich auf den von A. Mayer abgewiesenen Gedanken zurückkommen, dass nämlich die Rhachis nichts anderes als eine Verlängerung des im Hodenende vorhandenen Syncytiums darstellt, in die hin und wieder Geschlechtskerne hineinwachsen, welche wir dann als Rhachiskerne ansprechen. Denn halten wir die Rhachis für ein selbständig sich entwickelndes, zelliges Organ, so liesse sich der Mangel der Kerne durch nichts erklären.

Der innerste Teil der Rhachis (Taf. VIII, Fig. 1) hebt sich hell von der durch Eisenhämatoxylin geschwärzten peripheren oder Randschicht ab; und schon hier macht es besonders an der einen Hauptlamelle den Eindruck, als ob die zentrale Plasmamasse bestrebt ist, in die Verzweigungen einzudringen und diese von innen her aufzuspalten.

Und tatsächlich ist dies der weitere Entwicklungsverlauf. In Fig. 2 hat die noch kaum gefärbte zentrale Plasmamasse schon alle Hauptlamellen erfüllt.

Nach den Untersuchungen von Benedens und Julins an *Ascaris megalcephala* findet eine weitere Verzweigung der primären und sekundären Äste nicht mehr statt und auch bei *Sclerostomum* lässt sich an Querschnitten durch diesen Hodenteil nichts Gegenteiliges erkennen. Hertwig kommt dagegen bei *Ascaris megalcephala* zu einem anderen Resultat, denn er sagt ausdrücklich: „Nach ihrer Kante zu löst sich die Lamelle in feine Fäden auf, an denen die einzelnen Zellen festsitzen“.

Da ich nun bei leicht geschrumpftem Material zwischen den Kernen ein zartes Netzwerk nachweisen konnte, so möchte ich schon aus diesem Grunde auch bei *Sclerostomum* einer weiteren Verästelung das Wort reden; ich muss mir jedoch vorbehalten, erst später darauf zurückzukommen.

Ein Längsschnitt durch diese Hodengegend weist scheinbar mehrere Rhachiden auf; es handelt sich hierbei aber nur um die getroffenen Lamellen der zentralen Rhachissäule und hat nichts mit der von van Beneden und Julin bei *Ascaris megaloccephala* beschriebenen und hernach von O. Hertwig bestätigten Aufteilung der Rhachis in mehrere selbständige Rhachiden zu tun. Auch die von Eberth bei *Strongylus striatus* und *commutatus* beobachtete Ausbildung, die ich bei meinen Voruntersuchungen auch bei *Strongylus paradoxus* feststellen konnte — bei der sich nämlich die gesamte Rhachissäule abflacht, einrollt und dann teilt — und die Schneider auch bei *Sclerostomum armatum* vermutete, fand ich nicht bestätigt. Die Rhachis hat eben mit Schneider gesprochen „in den verschiedenen Gattungen und Spezies eine äusserst verschiedene Gestalt“.

Wie Pöppel zu der Äusserung kommt: „Das Verhalten der Rhachis . . . stimme genau mit der von Augstein bei *Strongylus filaria* überein“ — es findet hier gleichfalls die eben geschilderte Einrollung der Rhachis statt — ist mir vollkommen unverständlich. Überdies spricht Pöppel von einer „dunklen, bandförmigen Rhachis“, während die Entwicklung von Anfang an gerade dem entgegengesetzten Ziele, nämlich der Ausbildung einer sehr umfangreichen, zylindrischen Rhachissäule, zustrebt.

Die zentrale, jetzt schon leicht färbbare, noch homogen erscheinende Plasmamasse schwillt weiter an, die Kreuzfigur der Rhachis wird immer undeutlicher (Taf. VIII, Fig. 3), bis sie zuletzt einem Kreise Platz macht (Taf. VIII, Fig. 4).

An dieser Stelle kann ich jetzt auch meine obige Behauptung näher begründen. Von der Peripherie des besagten Kreises, der ja, wie wir oben gesehen, nichts anderes darstellt als die in ihm aufgegangenen primären und sekundären Rhachislamellen, sieht man nach allen Seiten hin Fäden ausstrahlen, d. h. die sekundären Rhachislamellen haben sich ihrerseits weiter verzweigt und schliesslich ein feines netzartiges Geflecht ergeben, das die einzelnen Geschlechtszellen umhüllt und stellenweise bis zum äussersten Rand der Keimsäule zu verfolgen ist. Es scheint mir durch diese Anordnung höchst wahrscheinlich gemacht, dass der Rhachis ausser ihrer gewöhnlichen Funktion eine weitere Aufgabe zufällt, nämlich die, das Protoplasma des Syncytiums auf die Ursamenkerne zu verteilen.

Hand in Hand mit der Aufspaltung der sekundären Lamellen ist eine weitere Veränderung im Rhachisstamm vor sich gegangen. Der, wie erwähnt, anfänglich homogene Rhachisstamm hat zwar noch nicht seine grösste Dicke erreicht — sein Durchmesser ist jetzt etwa 43μ , während der der Hodenröhre nicht mehr als 93μ beträgt — lässt aber jetzt schon im Querschnitt zwei konzentrische Ringe unterscheiden, die durch ein faseriges, mehr oder weniger radiär angeordnetes Protoplasma miteinander in Verbindung stehen (Taf. VIII, Fig. 4). Ein eben solches Plasma erfüllt auch den inneren Ring. Es ist dies das erste Anzeichen für die allmähliche Auflösung der Rhachis.

Dieser Prozess schreitet vom Zentrum aus fort, und es schwindet daher zuerst der innere Ring, an dessen Stelle ein äusserst lockeres Faserwerk tritt, in dem oft mit Eisenhämatoxylin färbare Körnchen liegen, die besonders aber in der peripheren Randschicht des Rhachisstammes angehäuft sind und in diesem Falle höchst wahrscheinlich auf die Reste tertiärer Verzweigungen derselben zurückzuführen sind (Taf. VIII, Fig. 5).

Ob es sich hier um die von Schneider und Pöppel erwähnten Körnchen handelt, vermag ich nicht zu sagen, da keiner von beiden eine nähere Beschreibung oder wohl gar Zeichnung liefert. Jedenfalls glaube ich kaum, dass Schneider bei seinen mehr oder weniger groben Untersuchungsmethoden diese feinen Partikelchen erkannt hat.

Bald hernach fällt auch der äussere Ring demselben Auflösungsprozess anheim und die Reste der tertiären Verzweigung sind noch weiter zurückgebildet (Taf. VIII, Fig. 6). Es ist dies etwa kurz vor der Stelle, wo die Spermiogonien beginnen, sich zur Reifeteilung vorzubereiten. Die Rhachis hat hiermit ihren grössten Umfang erreicht, denn ihr Durchmesser beträgt jetzt etwa 51μ zu 116μ Hodendurchmesser.

Es ist dies eine Ausdehnung, der sich aus der gesamten Literatur kein ebenbürtiger Fall zur Seite stellen lässt. Weder Munk, noch Leuckart, noch van Beneden haben bei ihren Forschungen an anderen Nematoden eine ähnliche enorme Rhachisausbildung angetroffen. Schneider allein ist diese schon bei unserem Parasiten aufgefallen, da er sie schon durch die geschlossene Hodenröhre leuchten sah; er hat sie aber keiner eingehenderen Untersuchung unterzogen.

Der Rhachisstamm stellt jetzt gewissermassen einen Zylinder dar, in den vereinzelte zarte Fasern hineinragen und dessen Mantel von einer ziemlich dünnen Schicht gebildet wird, die der Sitz oben besagter Körnchen ist. Der Stamm, somit seiner Festigkeit beraubt, vermag nicht länger dem Druck der ihn umgebenden und durch die äussere Hodenwand am weiteren Wachstum beschränkten Geschlechtszellen zu widerstehen; er wird zusammengeedrückt und legt sich ausserdem noch in longitudinale Windungen, wodurch die bei Längsschnitten auftretende Schlangenlinie ihre Erklärung findet (Taf. VIII, Fig. 7). Die zusammengepresste Randschicht der Rhachis weist anfangs noch ein verengertes Lumen zwischen sich auf, aber bald ist auch dieses verschwunden und nur die immer noch sichtbaren Randschichtkörnchen zwischen den jetzt in die erste Reifeteilung eintretenden Geschlechtszellen deuten noch auf die aufgelöste Rhachis hin. Auf die Körnchen werde ich übrigens später noch einmal zurückkommen.

b) Die weibliche Rhachis.

Ein wesentlich anderes Bild bietet der Entwicklungsvorgang der weiblichen Rhachis. Sie ist bei weitem nicht so kompliziert und stark in den einzelnen Regionen aufgebaut, doch ist dies gerade nicht verwunderlich, denn wir finden dieselbe Erscheinung mit Ausnahme von *Ascaris megaloccephala*, wo die weibliche Rhachis die männliche bei weitem an Dicke übertrifft, auch bei allen anderen Nematoden, und es ist so vielleicht zu verstehen, dass Pöppel sie in seiner Abhandlung über *Strongylus armatus* gar nicht seiner Aufmerksamkeit würdigte.

Anfangs tritt sie uns in der gleichen Gestalt wie beim Männchen entgegen; sie beginnt meist kurz hinter der Schneiderschen Terminalzelle, zeigt einen helleren Zentralteil, den Rhachisstamm, mit vier oder mehreren peripheriewärts ausstrahlenden Lamellen, die sich ihrerseits nochmals teilen, d. h. die Verhältnisse liegen gerade so wie beim Männchen.

Diese Gestalt bleibt nun aber beim Weibchen während der ganzen Keimzone erhalten und die einzige merkliche Veränderung besteht nur darin, dass die periphere Randschicht des Rhachisstammes stärker wird und letzterer von Strecke zu Strecke leichte Anschwellungen aufweist.

In diesen Rhachisverdickungen gelang es mir in vereinzelten Fällen Kerne festzustellen. Wir haben dergleichen Kerne schon

in der männlichen Rhachis kennen gelernt, und ich möchte daher hier nur noch darauf aufmerksam machen, dass zwischen den von A. Mayer an *Ascaris* beschriebenen und den von mir beobachteten Kernen ein recht beträchtlicher Unterschied besteht.

Fand Mayer bei einem Rhachisquerschnitt sowohl in der Keimzone wie in der Wachstumszone von Zeit zu Zeit zwei bis drei relativ kleine Kerne, so traf ich diese in der Keimzone und Wachstumszone stets einzeln und von sehr verschiedener Grösse. Dieselbe konnte unter derjenigen der umliegenden Geschlechtskerne zurückbleiben oder bis zur Grösse somatischer Zellkerne anschwellen. Ich habe zwei extreme Fälle in den Fig. 50 und 51, Taf. IX wiedergegeben; beide Kerne berühren von innen die Rhachisrandschicht, während jedoch der kleinere mehr die kugelige Form beibehalten hat, erscheint der grössere ellipsoid und weist einen deutlichen blaschenförmigen Nukleolus im lockeren Kerngerüst auf.

Bevor ich nun in der Besprechung der normalen Rhachis fortfahre, möchte ich noch auf eine individuelle Verschiedenheit hinweisen, die hin und wieder recht beträchtlich ist. Einen solchen abweichenden Entwicklungsverlauf habe ich in den Fig. 8, 9 und Fig. 11 (Taf. VIII) wiedergegeben.

Unmittelbar im Anschluss an die Endzelle der Ovarialröhre machte sich auf einem Längsschnitte im Synectium schon ein breiterer, hellerer Streifen mit einigen kleineren Kernen bemerkbar (Fig. 8), der sich in einem Querschnitt (Fig. 9) etwa mit Fig. 2 der männlichen Rhachisentwicklung vergleichen liesse. Ja, die Ähnlichkeit blieb sogar in den weiteren Stadien erhalten, indem es zur Abrundung der kreuzförmigen Querschnittsfigur kam und dadurch ein Zustand etwa Fig. 4 vergleichbar erreicht wurde (Fig. 11).

Der Hauptunterschied zwischen der abnormen und der normalen Entwicklung bestand also hauptsächlich darin, dass es zur Bildung eines bedeutend stärkeren, aber undeutlich begrenzten Rhachisstammes kam, an dem von weiteren Verzweigungen keine Spur zu sehen war.

Hiermit war etwa die Stelle erreicht, wo die anheftenden Geschlechtszellen in die Wachstumszone eintreten. Die nun folgenden Stadien stimmten mit den als Regel zu bezeichnenden wieder überein. Zum Vergleiche diene noch Taf. VIII, Fig. 10, die dem Beginn der Wachstumszone entnommen ist.

Wodurch jene abnorme Ausbildung veranlasst wurde, lässt sich nicht mit Bestimmtheit entscheiden. Auffällig war jedenfalls die verhältnismässig kurze Keimzone, und ich glaube allein aus diesem Grunde, dass es sich hierbei um das schon von Schneider beschriebene Aufhören der Geschlechtstätigkeit nach einer bestimmten Dauer der Reife handelt. Hierfür spricht vor allen Dingen noch, dass die Rhachis, wie ich oben hervorhob, in diesem Falle tatsächlich bis an die Terminalzelle reichte, was ja Schneider gerade als Charakteristikum für jenen Zustand bezeichnet. Man müsste freilich annehmen, dass die Rhachis selbst in ihrem Wachstum fortfuhr und dadurch bis an ihr äusserstes Ende diesen verhältnismässig bedeutenden Umfang erreichte.

Ich fahre nun mit der Besprechung der normalen, weiteren Entwicklung fort. Die Rhachisverzweigungen, die in Fig. 10 noch schwach zu erkennen waren, sind vollkommen geschwunden. Der Rhachisstamm weist eine immerhin noch deutliche Randschicht auf (Taf. VIII, Fig. 12), sein Inneres ist von einem netzartigen Protoplasma erfüllt, das jedoch anderer Art ist, als wir es beim Männchen kennen gelernt haben. Eine radiäre Anordnung der Fasern wird hier völlig vermisst; sonst aber schreitet der Auflösungsprozess — denn nichts anderes als diesen haben wir vor uns — gleichfalls vom Zentrum aus fort. Die Rhachis nimmt zwar noch um wenig an Umfang zu, aber schon etwa in der Mitte der Wachstumszone hat sie ihre grösste Ausdehnung erreicht; ihr Durchmesser ist hier durchschnittlich $14\ \mu$, während der der Eiröhre $55\ \mu$ beträgt.

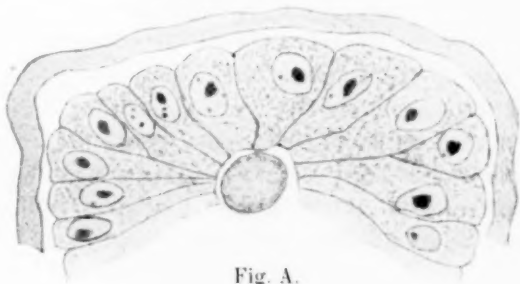


Fig. A.

Von nun ab wird sie allmählich, aber stetig dünner (Textfig. A und B, S. 238), während ihr Inneres häufig überhaupt nicht mehr nachweisbar ist.

Schliesslich verliert die Rhachis ihre zylindrische Gestalt und zerfällt in zahlreiche, mehr oder minder dicke Fasern, die noch eine Zeitlang zwischen den Geschlechtszellen der Eiröhre zu sehen sind (Textfig. C, S. 238). Es ist dies etwa die Stelle, wo die weiblichen Geschlechtsprodukte in den Eileiter eintreten, um auf dieser Wanderung noch den Reifeprozess durchzumachen.

Die weibliche Rhachis erweist sich also als bedeutend einfacher in ihrer Ausbildung und verschwindet auch bis auf die letzten Spuren in einem früheren Entwicklungsstadium der sie umgebenden Geschlechtszellen, als wir es bei der männlichen Rhachis feststellen konnten.

Am Ende dieser Rhachisbesprechung sei es mir vergönnt, noch kurz auf eine Eigentümlichkeit hinzuweisen, die mir beim Studium der Literatur auffiel. Bei den meisten bisher eingehend untersuchten Strongyliden konnte beim Männchen die Abflachung und Einrollung der Rhachis beobachtet werden. Vielleicht stellt sich diese Eigentümlichkeit bei weiteren Prüfungen als ein neues Charakteristikum dieser Familie heraus, und es wäre somit indirekt ein neuer Beweggrund gefunden, die von mir untersuchten Parasiten in die Familie der Sclerostomiden zu stellen und den von Pöppel wieder aufgenommenen Namen *Strongylus* zu verwerfen. Ich werde im Laufe der Arbeit auf ein vielleicht noch eigentümlicheres Charakteristikum der Sclerostomiden zu sprechen kommen, das sie von allen bislang untersuchten Nematodenarten trennt.

Die Entwicklung der männlichen Geschlechtsprodukte.

a) Die Keimzone.

Ein Längsschnitt durch das blinde Ende der Hodenröhre bietet im grossen und ganzen das gleiche Bild, das bisher von allen anderen untersuchten Nematoden beschrieben worden ist.

Den Abschluss bildet eine umfangreiche Zelle mit grossem, bald ellipsoidisch, bald wurstförmigem Kern, der einen bläschenförmigen, glänzenden Nukleolus aufweist. Von Strubell ist diese Zelle bei *Heterodera schachtii* schon mit Recht als ein Analogon der Schneiderschen Terminalzelle bezeichnet worden.

An diese Zellen schliessen sich nun zahlreiche kuglige Kerne an, die in einer plasmatischen Grundmasse ruhen und somit das schon mehrfach beschriebene Syncytium darstellen.

Unter den vielen Autoren, die sich mit der Erforschung der Chromatinverhältnisse in den Geschlechtszellen der Nematoden beschäftigt haben, hat nur ein geringer Teil den ungünstigen Verhältnissen in den Spermio- und Oogonien ihre Aufmerksamkeit geschenkt und unter diesen sind es wiederum O. Hertwig, Brauer, Struckmann und Gulick, die an verschiedenen Objekten hervorheben, dass sich die frühesten Spermio- und Oogonienkerne im Stadium der Ruhe befänden oder dass sich ihr Chromatin entweder als sehr feine zahlreiche Körnchen oder auch als ein unregelmässiges Retikulum darstelle.

Ich habe „derartige Ruhestadien“ auch bei Sclerostomum beobachten können, wie am besten ein Vergleich der Struckmannschen Fig. 1, Taf. X und meiner Fig. 14, Taf. VIII erhellt. Ich bin jedoch der Ansicht, dass diesen Spermio- und Oogonienkernen die Bezeichnung „Ruhe“ zweckmässiger abzusprechen ist; denn unter einem ruhenden Kern verstehe ich vielmehr einen solchen, bei dem entweder das Chromatin überhaupt nicht oder als ein kompakter Haufen, als Chromatinmukleolus, sichtbar zu machen ist.

Doch welcher Bezeichnung man auch zustimmen mag, jedenfalls findet man von Anfang an „ruhende Kerne“ mit Teilungsstadien vermischt, und es scheint mir auch diese Anordnung schon dafür zu sprechen, dass wir die Stadien der „ruhenden Kerne“ als den Beginn der Prophasen ansehen müssen.

Die feineren Vorgänge bei der Spermio- und Oogonienteilung sind ausserordentlich schwer zu erkennen, denn die Kerne sind im Verhältnis zu der sich ausbildenden Chromosomenzahl recht klein. Immerhin vermochte ich an den äussersten, grösseren Ursamenkernen einige regelmässig auftretende Chromatinveränderungen festzustellen.

In den, wie schon erwähnt, kugligen Kernen findet man das gesamte Chromatin in Brocken von unregelmässiger Gestalt und etwas differenter Grösse stets peripher gelegen, gewissermassen der Kernmembran von innen angeklebt. Dieser Eindruck wird besonders durch den Mangel oder genauer gesagt durch das kaum sichtbar zu machende Liningerüst hervorgerufen. Bei den meisten Fixations- und Färbemethoden ist es überhaupt nicht nachweisbar, nur an Flemming-Material, das mit Eisenhämatoxylin-Eosin gefärbt worden war, sowie an Bouin-Material bei Gramscher Färbung zeigte sich ein feiner blasser, achromatischer Faden, auf dem die Chromatinbrocken ruhten.

Dieses Stadium wäre also den besagten „ruhenden Kernen“ gleichzusetzen. Als ein weiterer Beweisgrund meiner obigen Behauptung wäre jedoch noch hervorzuheben, dass die Anzahl der vorhandenen Chromatinbrocken annähernd der für *Sclerostomum* typischen Chromosomenzahl gleichkommt.

Die Chromatinbrocken strecken sich nun ein wenig und werden zu kurzen, dicken Chromatinstäbchen (Taf. VIII, Fig. 15), die ihrerseits bald in bedeutend zartere, etwas geschlängelte Fäden übergehen (Fig. 16 und 17), wodurch das von Struckmann und anderen beschriebene Stadium erreicht wird; es scheint dasselbe jedoch nur zu Beginn der Hodenröhre vorzukommen und bei den späteren Kernteilungen der Keimzone unterdrückt zu werden.

Hiermit haben die Chromosomen — denn als solche müssen wir sie von jetzt ab zweifellos bezeichnen — ihre grösste Länge, aber nicht ihre endgültige Gestalt erreicht; vielmehr werden nun die gleichen Entwicklungsphasen, aber in entgegengesetzter Richtung, durchlaufen.

Dieser Vorgang erscheint im Grunde genommen zwecklos, liesse sich jedoch vielleicht erklären, wenn wir unser Stadium mit den feinen, geschlängelten Chromosomen dem Spiremstadium der typischen Kernteilungen gleichsetzen, wobei es in unserem Falle nicht zur Ausbildung eines einheitlichen Fadens kommt, sondern dieser von Anfang an in Teilstücken auftritt.

Die Chromatinfäden, die infolge ihrer Länge nicht mehr ausschliesslich peripher gelagert sind, sondern auch teilweise durch das Kerninnere hindurchziehen, werden jetzt zu gebogenen, schliesslich geraden Stäbchen (Fig. 18) und beginnen sich einerseits wieder zu verkürzen und zu verdicken, andererseits macht sich auch eine Anordnung nach einem bestimmten Prinzip bemerkbar, indem sie sich allmählich einander ihrer Längsachse parallel zu lagern suchen (Taf. VIII, Fig. 19). Zu gleicher Zeit macht sich eine seichte mediane Querfurche bemerkbar, die auf die bevorstehende Teilung hinweist.

Eine Kernmembran konnte ich bei diesem Stadium nicht mehr nachweisen, vielmehr lagen die Chromosomen in einem helleren Hof des gemeinsamen Zellplasmas. Es ist jedoch wohl möglich, dass die Kernmembran erst später oder sogar früher verschwindet, denn da sie niemals recht deutlich hervortritt, so ist eine Täuschung wohl denkbar.

Haben die Chromosomen sich so weit verkürzt, dass sie nur noch aus zwei dicht aneinander liegenden Kügelchen bestehen, einem Biskuit vergleichbar, so haben sie sich auch schon in einer Äquatorialplatte angeordnet, die bei einer Polansicht elf Chromosomen aufweist (Taf. VIII, Fig. 20).

Die stark verkürzten Chromosomen konnte ich nur in wenigen Fällen deutlich beobachten, und es ist dies vielleicht ein Stadium, das sehr schnell durchlaufen wird. Die Form der weit häufiger vorkommenden Spindeln liess jedoch von vornherein eine derartige Verkürzung der Chromosomen vermuten. Fällt nämlich die Spindelachse mit der Schnittebene zusammen, so sieht man eine zierliche, wenig gestreckte Spindel, deren Spindelfäden bei Safraninfärbung schwach rot tingiert sind, bei der Gramschen Färbung aber besonders an Flemming-Material sehr gut hervortreten und an den Polen winzige Centrosomen aufweisen. Im Äquator dagegen findet man eine stark gefärbte, scheinbar kompakte Platte, die häufig einen feinen Längsspalt zeigt, d. h. in diesem Falle sieht man zwei übereinander liegende Scheiben. Jede Scheibe aber ist nichts anderes als die Summe der eben gebildeten Tochterchromosomen.

In wenigen Fällen konnte ich jedoch auch an diesen Spindeln die Stellung der Chromosomen in der Äquatorialplatte beobachten, letztere war dann aber stets beim Mikrotomieren zerteilt und dadurch übersichtlicher geworden (Taf. VIII, Fig. 21 a—c).

Aus vorangegangener Schilderung ist ersichtlich, dass die einzige Möglichkeit der Chromosomenzählung in den Prophasen oder in den Metaphasen bei Polansicht liegt; es schliesst sich also *Sclerostomum* ganz den bei *Ascaris canis*, *Strongylus filaria* und neuerdings von Mulsow bei *Ancyracanthus cystidicola* beschriebenen Verhältnissen an.

Nun aber nochmals zurück zur Chromosomenzahl selbst. Wie gesagt, werden in den Spermiogonien elf Chromosomen gebildet, und es ist daher bei Berücksichtigung der Verhältnisse, die wir später beim Weibchen kennen lernen werden, von vornherein zu vermuten, dass es in der Teilzone zu einer Heterokinese kommen wird, da eins der elf Chromosomen ein Monosom im Sinne Montgomerys oder ein Idiochromosom nach der Wilsonschen Bezeichnung ist.

Gulick, der bei *Heterakis vesicularis* ähnliche Verhältnisse aufdeckte, indem er neun Chromosomen beobachtete, sagt hierzu:

„Es wäre theoretisch zu erwarten, dass eins von diesen Chromosomen sich von den acht anderen als unpaares Heterochromosoma oder Idiochromosoma erkennbar unterscheide, und es ist nicht unmöglich, dass wir es in dem grössten Chromosoma der Äquatorialplatte zu erkennen haben; aber ich halte es für gewagt, geringen Grössenunterschieden bei so kleinen Chromosomen viel Bedeutung zuzuschreiben“.

Ich stimme dieser Äusserung vollkommen bei und möchte nur noch hervorheben, dass mir bei *Sclerostomum* in diesen Stadien auch nicht der geringste Grössenunterschied aufgefallen ist, immerhin beschränken sich meine Beobachtungen nur auf eine kleine Zahl genügend klarer Bilder.

Ich möchte nun noch eines Kernbestandteiles Erwähnung tun, der von allen Forschern stets beschrieben worden ist, nämlich des Nukleolus. Wenn man sich obiger Schilderung erinnert, so wird man leicht einsehen, dass ein Nukleolus unter der Zahl der stark, wenn auch nicht gleichgefärbten Chromatinbrocken nur etwa durch bedeutendere Grösse auffallen könnte. Dies ist jedoch nur in beschränktem Maße der Fall. Glücklicherweise kommt hier ein anderer Umstand zu Hilfe, nämlich die verschieden grosse Affinität der Körnchen, die Farbstoffe festzuhalten. Bei allen Schnitten, die nach Heidenhain, Gram oder mit Safranin gefärbt wurden, liessen sich durch im Grunde genommen zu langes Entfärben ein oder zwei, selten sogar drei Körnchen herausdifferenzieren, die bei gewöhnlicher Färbung von den übrigen Chromatinbrocken nicht zu unterscheiden waren. Das eine derselben zeigte eine wenig gestreckte, stäbchenförmige Gestalt, das andere stets kuglige (Taf. VIII, Fig. 22).

Obwohl ich es für gewagt halte, so winzigen gestaltlichen Verschiedenheiten einen allzu grossen Wert beizulegen, so wäre es immerhin denkbar, dass wir schon hier in dem gestreckteren Körper das oben erwähnte Heterochromosom vor Augen haben; doch werde ich hierauf erst in späteren Entwicklungsstadien zu sprechen kommen.

Vergleicht man Querschnitte durch die Keimzone betreffs der Anzahl und Verteilung der Mitosen, so stellen sich dabei individuelle Verschiedenheiten heraus. Es ist keineswegs selten, dass man bei Schnittserien durch die Keimzone aufeinander folgende Bilder erhält, in denen unter ca. 400—500 Spermiogonien-

kernen auch nicht eine Meta- oder Anaphase zu sehen ist; in anderen Schnittserien dagegen ist das Verhältnis etwa wie 10 zu 4—500. Vielleicht lässt sich hieraus ein periodischer Entwicklungsverlauf schliessen, wie er ja in der Spermiogenese des öfteren beobachtet worden ist.

Bevor ich nun in der weiteren Besprechung der Chromatinumwandlungen fortfahre, sei noch kurz der sogenannten Zwischenkörperchen gedacht, die in der Keimzone festzustellen waren.

O. Hertwig, der als erster die wahre Bedeutung der viel umstrittenen Gebilde aufdeckte, fand sie bei *Ascaris megalocephala* in der Keimzone zwischen den Spermiogonienkernen verstreut und konnte sie einwandfrei durch eine Reihe von Zwischenstadien als degenerierte Kerne identifizieren. Es sind seitdem an den verschiedensten Objekten die gleichen Körper wiedergefunden worden, nur mit dem Unterschied, dass sie teils in anderen Zonen, teils in anderer Anordnung angetroffen wurden.

Die von mir bei *Sclerostomum* beobachteten schliessen sich am besten den von Schleip bei *Rhabdonema nigrovenosum* beschriebenen an, indem auch hier die Zwischenkörperchen stets an der Peripherie der Hodenröhre auftreten und kompakte, stark färbbare Klumpen darstellen (vgl. Taf. VIII, Fig. 2).

Kehren wir aber jetzt wieder zu den Spermiogonienkernen zurück. Den oben geschilderten Umwandlungsprozess muss die Deszendenz der Ursamenkerne mehrmals durchlaufen, das lässt sich ohne weiteres einerseits aus der Anzahl der Kerne am Ende der Keimzone, andererseits aus den überall sporadisch auftretenden Mitosen schliessen. Wieviel der Teilungen etwa vorliegen, und was der Grund des schliesslichen Aufhörens derselben ist, dafür lassen sich keinerlei Anhaltspunkte finden; die Frage ist auch, soweit mir bekannt, von keinem Forscher berührt worden.

b) Die Wachstumszone.

Beim Eintritt in die Wachstumszone hat der Kern seine geringste kuglige Grösse, und zwar ist er etwa halb so gross wie zu Anfang der Keimzone, was am deutlichsten aus den beiden Übersichtsbildern Fig. 1 und 2 zu ersehen ist. Es lagern hier auf einem Querschnitt etwa acht bis neun Kerne auf einem Radius, das ist die höchste Zahl, die je erreicht wird.

Eine strenge Grenze zwischen Keim- und Wachstumszone existiert allerdings nicht und die einzige wegen ihrer schlechten Sichtbarkeit aber gleichfalls nicht durchgreifende Erscheinung ist das Auftreten von Zellgrenzen zwischen den Kernen.

Ich habe eingangs bei Besprechung der Rhachis schon darauf hingewiesen, dass die feinsten Rhachisverzweigungen die Aufteilung des Syncytiums übernehmen, da diese aber in ihren Uranlagen nur an leicht geschrumpftem Material zu sehen sind, so büssen sie als Prognose für die Wachstumszone bedeutend an Wert ein. Zwischen den Maschen dieses Netzwerkes liegt im gegebenen Falle je ein Kern, dessen umhüllendes Plasma sich meist zurückgezogen hat, dicht dem Rhachisnetz anliegt und letzteres dadurch deutlicher hervorhebt.

Erst von hier ab können wir also von Geschlechtszellen reden, in deren Kernen wir zahlreiche Chromatinbröckchen finden und ausserdem einen grösseren runden und einen schwach gestreckten Körper, d. h. das erste Nukleolusstadium Gulicks (Taf. VIII, Fig. 23).

In der Wachstumszone hat Gulick bei *Heterakis vesicularis* drei typische Stadien unterschieden. Inwieweit ich ähnliche Verhältnisse auch bei *Sclerostomum* fand, werden wir im weiteren Verlauf der Darstellung sehen, zuerst möge hier die diesbezügliche Stelle Gulicks folgen: „Zwischen der letzten Spermatogonienteilung und dem Zeitpunkt, in dem die Tetraden deutlich zum Vorschein kommen, sind drei Hauptstadien zu unterscheiden, nämlich 1. ein erstes Nukleolusstadium, 2. ein Spiremstadium und 3. ein zweites Nukleolusstadium. Die Bezeichnung Nukleolusstadium ist hier rein deskriptiv. Wir werden sehen, dass der „Nukleolus“ im dritten Stadium und vermutlich im ersten eigentlich ein kompakt bleibendes Chromosoma, ein „Chromosomnukleolus“, ist.“

Wir haben also in den oben beschriebenen Kernen zweifellos das erste Nukleolusstadium Gulicks vor uns, wobei der etwas gestrecktere Chromatinkörper dem „Chromosomnukleolus“ entsprechen dürfte.

Eine weitere Gegenüberstellung meiner Bilder mit denjenigen Gulicks scheitert jedoch daran, dass das Charakteristikum, nämlich das Auftreten, Verschwinden und abermalige Auftauchen eines Nukleolus, bei *Sclerostomum* nicht vorhanden ist. Auch hier können wir in der weiteren Entwicklung drei oder sogar vier

Phasen unterscheiden, aber stets werden wir in ihnen mehr oder minder deutlich eins bis zwei Nukleolen finden; die Stadien gehen zwar alle ohne scharfe Grenzen ineinander über, zeigen jedoch im Höhepunkt ihrer Ausbildung stark in die Augen fallende Unterschiede.

Die dem ersten Stadium folgende Phase ist durch die allgemeine Gestaltveränderung des Kernes gekennzeichnet. Derselbe nimmt eine ovale Form an und lagert sich stets so, dass seine Hauptachse mit den Transversalachsen der Hodenröhre zusammenfällt. Seine Chromatinbröckchen treten dicht an die Kernmembran, wodurch letztere fast unsichtbar wird und ausserdem tingieren sie sich nicht mehr scharf, sondern beginnen klumpig zu werden. Hierdurch treten die beiden Nukleolen in den Hintergrund, lassen sich aber meist noch nachweisen. Bei gut gelungener Gramscher oder Safraninfärbung sieht man zwischen den Chromatinbrocken einen feinen achromatischen Faden verlaufen, so dass der ganze Kerninhalt einer Perlschnur ähnelt, wie dies Tretjakoff auch für *Ascaris megaloccephala* beschrieben hat und dadurch vielleicht andeutungsweise an das Spiremstadium Gulicks erinnert (Taf. VIII, Fig. 24).

Es folgt nun eine weitere Verklumpung des Chromatins, das jetzt einen mehr kompakten Eindruck macht und sich zu einem zackigen, unregelmässigen Gebilde verwandelt, wodurch die ovale Gestalt des Kernes unterdrückt wird. Denn die Kernmembran, die, wie oben erwähnt, mit dem Chromatin in engen Kontakt trat, ist verschwunden oder besser gesagt unsichtbar geworden, indem sie den Chromatinbröckchen dicht aufliegt (Taf. VIII, Fig. 25 a—c).

Wir haben somit zweifellos das von Brauer, Tretjakoff, Mulsow und anderen stets beschriebene Synapsisstadium vor uns, freilich mit dem auffälligen Unterschied einer nicht nachweisbaren Kernmembran.

Diese Zone der Hodenröhre lässt sich von allen am schwersten darstellen, denn wenn z. B. bei angewandter Gramscher Färbung die übrigen Stadien längst zu weit differenziert sind, so ist besagte Zone noch stark überfärbt und fällt bei einer Durchsicht der Schnittserien zuerst ins Auge. Führt man aber mit der Differenzierung weiter fort, so verschwindet das Kernbild, ohne je deutliche Konturen gezeigt zu haben.

Ich möchte hier ein weiteres, wiederum hauptsächlich durch die äussere Kerngestalt gekennzeichnetes Stadium einschalten, das ich „gestrecktes Knäuelstadium“ nennen werde, um durch eine Bezeichnung wie „Spindelstadium“ nicht zu Verwechslungen Anlass zu geben. Es ist durch folgende Eigentümlichkeiten charakterisiert.

Aus dem Chromatinklumpen entwickelt sich mit der Zeit wieder ein ovaler Kern, der aber bald zu einem langgestreckten Körper ausgezogen wird und etwa drei- bis viermal so lang als dick ist. Die Kernmembran ist währenddessen wieder sichtbar geworden und die dicht unter ihr liegenden Chromatinbrocken, die durch einen achromatischen Faden verbunden sind, wie wir dies nun schon mehrfach kennen gelernt haben, wölben sich ins Cytoplasma vor, so dass der ganze Kern gleichsam mit kleinen Warzen versehen ist (Fig. 26).

Von diesem „gestreckten Knäuelstadium“, wie ich es eben geschildert habe, gibt es zwar mannigfache Abweichungen, indem die Pole einerseits gerundet sein können, andererseits die sonst in der Mitte gelegene breiteste Kernstelle nach einem Pol gerückt oder sogar verschwunden ist, so dass der Kern wurstförmig wird, stets aber finden wir das Chromatin in Bröckchen verteilt und unter diesen einen grösseren kugligen und einen mehr oder weniger gestreckten Körper, d. h. stets Gebilde, die wir mit gleichem Recht wie im „ersten Nukleolusstadium“ als „Nukleolen“ bezeichnen können (Taf. VIII, Fig. 26 a—i).

Der Übergang aus diesem Stadium in das sogenannte „zweite Nukleolus-“ oder letzte Stadium der Wachstumszone ist auch bei *Sclerostomum* ein ganz allmählicher und nimmt überhaupt den grössten Teil derselben in Anspruch. Wie schon hervorgehoben, verliert ja für mich die Bezeichnung „erstes und zweites Nukleolusstadium“ vollkommen an charakterisierendem Wert, da ich auch in den Zwischenstadien die Nukleoli beobachten konnte, immerhin mag diese Benennung entsprechend der Gulickschen gestattet sein, wenn man nicht den allgemeineren Begriffen: Anfangs-, Spirem-, Synapsis-, gestrecktes Knäuel- und Endstadium der Wachstumszone den Vorzug geben möchte.

Indem der Kern allmählich wächst und seine ovale Gestalt wiedergewinnt, gehen am Chromatin und seinem Gerüstwerk nur insofern Veränderungen vor sich, als das Gesamtbild klarer und deutlicher wird (Taf. VIII, Fig. 27 und 28 a—c).

Hand in Hand mit der Kernvergrößerung findet ein Wachstum des Cytoplasmas statt. Es liegen bei einem Querschnitt durch diese Zone nur noch vier bis fünf Kerne auf einem Radius der Hodenröhre und die Peripherie derselben zeigt languettenartige Einbuchtungen (vgl. Fig. 4). Eine jede Languette entspricht der Zellgrenze des unter ihr liegenden Kernes. Ebenso treten neben den oben beschriebenen tertiären Rhachislamellen kleine Spalten auf, die nach und nach grösser werden und zwischen sich feine Stiele erkennen lassen, mit denen die Spermiogonien der Rhachissäule aufsitzen.

Sobald sich die Zahl der auf einem Radius liegenden Spermiogonienkerne bis auf drei vermindert hat, lassen sich häufig schon dünne Stiele bis zu den an der Peripherie lagernden Kernen nachweisen und wir haben dann die schon mehrfach beschriebenen keulenförmigen Spermiogonienzellen vor uns (Taf. VIII, Fig. 5).

Indem nun die Kerne weiter anschwellen und sich allmählich wieder der Kugelform nähern (Taf. VIII, Fig. 29), werden einerseits die Keulenden dicker und massiger, andererseits verkürzt sich der Keulenschaft, so dass die Geschlechtszellen schliesslich fast rechteckig sind und der Rhachis mit breiter Basis aufsitzen (Taf. VIII, Fig. 6 und 7).

Hiermit ist aber die Stelle erreicht, wo, wie wir oben gesehen haben, die Rhachissäule zusammengedrückt wird, d. h. die Grenze zwischen Wachstums- und Reifezone, und wir müssen von nun ab die Geschlechtszellen als Spermiocyten bezeichnen und die folgenden Chromatinveränderungen ihrer Kerne als Prophasen für die erste Reifeteilung ansprechen.

Werfen wir nun kurz einen Blick auf das Verhalten der Kerne in der Wachstumszone zurück, so können wir das Zurücktreten eines vollkommenen Ruhestadiums in derselben sowie das stete Vorhandensein eines kugeligen und eines mehr oder minder stabförmigen Nukleolus als charakteristisch für *Sclerostomum* hervorheben. Ob man aber in dem stabförmigen Körper einen „Chromosomnukleolus“, wie Gulick sagt, oder das „Heterochromosom“ zu erblicken hat, wie dies Mulsow bei ähnlichen Verhältnissen für *Ancyracanthus cystidicola* behauptet, ist zwar sehr wahrscheinlich, lässt sich jedoch, wie die weitere Entwicklung zeigen wird, nicht strikte beweisen.

c) Die Reifezone.

An den jungen Spermiocyten machen sich bald weitere Veränderungen bemerkbar, indem sie einerseits durch den gegenseitigen Druck eine polygonale Gestalt annehmen, andererseits gehen an den Chromatinbrocken der Kerne die gleichen Vorgänge von statten, wie wir sie an denjenigen der Keimzone kennen gelernt haben. Auch jetzt entstehen erst wieder feinere, längere Chromosomen, die sich durch ihr zackiges Aussehen und ihre Windungen auszeichnen (Taf. VIII, Fig. 30 und 31a und b); bevor es jedoch zur typischen Tetradenbildung kommt, können wir mit Schleip sagen, „machen die Chromosomen offenbar recht merkwürdige Gestaltsveränderungen durch, doch sind alle diese Chromosomenformen bekanntlich schon oft gefunden und beschrieben worden“.

Ich kann mich daher kurz fassen: die fadenförmigen Chromosomen werden allmählich kompakter, verlieren ihr zackiges Aussehen und sind mehr oder minder stark gebogen (Taf. VIII, Fig. 31). In diesem Stadium stimmen sie mit den von Struckmann (Fig. 23 und 24) abgebildeten überein, ich möchte aber besonders betonen, dass die übrigen Zwischenstadien — nämlich die Ausbildung eines Doppelfadens und dessen spätere Teilung — bei unserem Objekt zum Fortfall kommen; somit kann ich im Gegensatz zu Struckmanns unsicherer Äusserung mit aller Bestimmtheit sagen, dass ein kontinuierlicher chromatischer Faden bei *Sclerostomum* niemals anzutreffen ist.

Die langen, gebogenen Chromosomen strecken sich jetzt etwas und nur ihre Enden weisen noch eine Zeitlang eine schärfere Krümmung auf; zugleich bemerken wir in der Mitte der Chromosomen das Auftreten eines Querspaltcs sowie bei günstiger Lagerung auch einen Längsspalt, mit anderen Worten, wir haben typische Tetraden vor uns (Taf. VIII, Fig. 32a und b).

In der Art der Tetradenbildung weichen somit meine Beobachtungen von denjenigen Struckmanns bedeutend ab. Während Struckmann für *Strongylus filaria* angibt, dass zwei der gebogenen Chromosomen miteinander in Verbindung treten und „die Tendenz zeigen, sich parallel zu lagern“ und nun an jedem Faden eine Querteilung auftritt, „die jedoch nicht zu Ende geführt wird“, habe ich für *Sclerostomum* die Überzeugung gewonnen, dass die anfangs einheitlichen Chromosomen erst durch

Quer- und Längsspaltung in die Tetradenform übergehen. Die Konjugation der Chromosomen muss also schon in der Anlage vollzogen sein, und meine Beobachtungen würden sich somit etwa den Brauerschen für *Ascaris megalocephala* anschliessen.

Sobald die Tetradenform deutlich zur Ausbildung gelangt ist, wobei sich die Chromosomen etwas verkürzt haben und auch ihre Endenkrümmung verschwunden ist, macht sich unter ihnen eine Anordnung nach einem bestimmten Prinzip bemerkbar. Von den sechs ausgebildeten Chromosomengruppen finden wir nämlich entweder je drei einander parallel gerichtete, die als Ganzes aufgefasst, gegeneinander um 90° gedreht sind oder aber es stehen sogar fünf Gruppen einander parallel, während nur die sechste eine abweichende Stellung einnimmt (Taf. VIII, Fig. 32a und b).

Wird auch häufig diese Anordnung nicht völlig erreicht, so sehen wir doch meist vier Chromosomengruppen einander parallel gerichtet. Schon auf diesem Stadium waren ziemlich deutliche Grössenunterschiede zwischen den chromatischen Elementen zu erkennen. So ist z. B. in Fig. 35a das untere chromatische Element bedeutend dünner und kürzer. Bei den zwei rechts und links im Kern liegenden, die gleichfalls dünner erscheinen, muss dagegen unbedingt die Lage berücksichtigt werden, denn decken sich die Teilstücke einer Tetrade im Bilde, so muss sie selbstverständlich schlanker erscheinen, als wenn dieselben nebeneinander wahrgenommen werden. Immerhin bleibt die rechte Chromosomengruppe auch etwas an Länge zurück, und da ich ähnliche Abweichungen hin und wieder fand, möchte ich doch an der so oft betonten mathematischen Genauigkeit der Chromosomenbildung berechnigte Zweifel hegen; denn diesen Grössendifferenzen der beiden seitlichen Chromosomengruppen eine tiefere Bedeutung beizulegen, halte ich für verfehlt.

Während der bekannten, jetzt einsetzenden Verkürzung und Verklumpung der Tetraden verlassen sie die Kernmembran, die hiermit zugleich verschwindet und ordnen sich zur Spindel. Auf das Verschwinden des Längsspalt in den Tetraden ist schon von mehreren Seiten aufmerksam gemacht worden, doch kann ich der Struckmannschen Annahme, „dass das Verschwinden des Längsspalt während des Teilungsvorganges jedenfalls der auf die plastischen Chromatinmassen einwirkenden Zugkraft der Spindelfasern zuzuschreiben ist“, nur schwer beistimmen, denn

der Spalt kann längst verschwunden sein, bevor auch nur eine Spur von Spindelfasern nachzuweisen ist, oft sogar schon vor der Auflösung der Kernmembran.

In der Spindel, deren Pole von winzig kleinen Centrosomen eingenommen werden, die bei der Gramschen Färbung graublau bis violett, mit Safranin schwach rosa tingiert werden, stehen die Chromosomen so, dass ihre Längsachsen mit denen der Spindelfasern zusammenfallen, ihre Anordnung zueinander lässt sich jedoch nur in Polansichten erkennen (Taf. VIII, Fig. 33 a—d).

In diesen Fällen sehen wir meist fünf in einem Kreise angeordnete Körnchen, Tetradenquerschnitte, die bei nicht zu weit differenzierter Gramscher Färbung herzförmig erscheinen, was wohl auf den verschwommenen Spalt zweier nebeneinander liegender Chromosomen zurückzuführen ist. In dem Zentrum des Kreises steht dann jedesmal ein bedeutend feineres Chromosom in Form eines kleineren Körnchens (Fig. 33 a).

Diese Anordnung ist schon von Schleip, Struckmann, Gulick und Mulsow geschildert worden, d. h. überall da, wo in der ersten Reifeteilung sechs Chromosomengruppen vorhanden waren, und ich möchte ihr wegen der charakteristischen Form die Bezeichnung „Rosettenstadium“ beilegen.

Neben diesem typischen „Rosettenstadium“ kommt, wenn auch bei weitem nicht so häufig, eine andere Stellung vor, etwa den fünf Augen eines Würfels entsprechend, wobei ein sechstes, kleineres Auge ausserhalb der Karreefigur anzutreffen ist (Fig. 33 c); weicht jedoch die Anordnung von der Rosettenform ab, so sind mancherlei Stellungsdivergenzen aufzufinden, die meist durch kleine Verschiebungen der Chromosomengruppen untereinander hervorgerufen werden.

Sowohl aus der ungeraden Chromosomenzahl der Ursamenkerne als auch aus dem Grössenunterschied der sechs Spermiocytenchromosomen lässt sich, wie schon angedeutet, in einer der beiden Reifeteilungen eine Heterokinese im Sinne Gutherz' erwarten, d. h. die Erscheinung, dass in der Mitose ein Chromosom, nämlich das Mono- oder Heterochromosom, statt in zwei nach verschiedenen Polen auseinanderweichende Teile zu zerfallen, ungeteilt dem einen Pol zuwandert, wobei es sich meist langsamer bewegt und hinter den übrigen Teilstücken der Chromosomen zurückbleibt.

Und in der Tat findet man auch bei Sclerostomum derartige Vorgänge, aber bei weitem nicht in dem Maße, dass man sie als typische Stadien, die von allen Spermiocyten in der ersten Reifeteilung durchlaufen werden müssen, ansprechen dürfte. Ich habe verschiedentlich Stadien angetroffen, bei denen die Tochterplatten erst so wenig voneinander gerückt waren, dass man ein zurückbleibendes Chromosom zweifellos hätte sehen müssen und trotzdem war ein solches auch nicht einmal andeutungsweise vorhanden (Taf. IX, Fig. 34 a—c).

Wir müssen also entweder annehmen, dass die verlangsamte Bewegung bei Geschlechtschromosomen kein allgemeiner, typischer Vorgang ist oder aber wir müssen für den Mangel dieser Erscheinung in unserem Falle eine andere Erklärung finden; ich kann diese jedoch erst abgeben, wenn wir den weiteren Verlauf und die zweite Reifeteilung kennen gelernt haben.

Durch die erste Reifeteilung werden also die fünf Tetraden in zehn Dyaden zerlegt, während das Monosom sich höchst wahrscheinlich ungeteilt einer der beiden Tochterplatten anschliesst. Wir haben somit zwei Arten von Tochterplatten zu unterscheiden, nämlich erstens eine solche mit fünf aus je zwei Chromosomen bestehenden Chromosomengruppen und zweitens eine solche mit gleichfalls fünf Chromosomengruppen + einem Monosom. Die Erkenntnis dieser Tatsache wird aber durch den Umstand erschwert oder sogar unmöglich gemacht, dass die Teilstücke der Tetraden sich während ihrer Wanderung zum Pol dichter aneinanderschliessen und somit bei der Polansicht eine kompakte Scheibe darstellen, deren Rand schwach languettiert erscheint — wobei jede Languette einem Chromosom entsprechen dürfte — und deren Zentrum häufig eine hellere Stelle aufweist. Wenn letztere durch den Mangel des Monosoms verursacht würde, so könnte man hieraus sowie aus der Zahl der Languetten auf die Chromosomenzahl der jungen Spermiocyten zweiter Ordnung schliessen, doch liegen die Verhältnisse meist nicht so klar, wie man aus obiger Schilderung vermuten könnte, so lassen z. B. beide Erscheinungen in einem Bilde vereinigt an Klarheit oft zu wünschen übrig (Taf. IX, Fig. 35 a—d).

In diesem Stadium verharren die jungen Spermiocyten zweiter Ordnung, ohne eine Kernmembran gebildet zu haben, nur kurze Zeit, und es wäre noch hervorzuheben, dass man bei Längs-

schnitten manchmal auf der einen Seite des Hodenschlauches Spermiocten zweiter Ordnung findet, während auf der anderen Seite bedeutend jüngere Stadien lagern. Diese Erscheinung erklärt sich aus dem schon oben geschilderten geschlängelten Verlauf der zusammengedrückten Rhachis, die häufig noch in der ersten Reifeteilung zwischen den Geschlechtszellen nachzuweisen ist, wie dies Schneider auch schon bei *Filaria papillosa* beobachtet hat.

Aus diesem Grunde ist es auch keineswegs schwer, unter Berücksichtigung unserer Beobachtung bei der Rhachisausbildung, das Auftreten zahlreicher, kleiner Körnchen zwischen den Geschlechtszellen zu deuten, die oft den Anschein von Centrosomen erwecken können. Es handelt sich hierbei sicherlich nur um die letzten Reste der tertiären Rhachisverzweigungen, welche die schon früher betonte starke Affinität zu Kernfarbstoffen beibehalten haben, wenngleich sie teils schon bis auf Centrosomengrösse reduziert worden sind.

Aus den Tochterplatten der Spermiocten erster Ordnung gehen schliesslich wieder Spindeln hervor, die sich von denen der ersten Reifeteilung allein durch ihre Grösse unterscheiden, selbstverständlich abgesehen davon, dass ein Teil sechs, der andere Teil fünf Chromosomengruppen aufweist, wie ich dies ja schon in obiger Schilderung angegeben habe. Es liegen also auch bei der zweiten Reifeteilung die Chromosomengruppen mit ihrer Längsachse in der Richtung der Spindeliasern und zeigen in der Mitte eine Einschnürung, die auf eine abermalige Querteilung hindeutet (Taf. IX, Fig. 36 a—e).

Wir müssen uns daher fragen: Was für Veränderungen haben die bei der ersten Reifeteilung auseinander weichenden, nebeneinander liegenden Teilstücke der Dyaden durchgemacht, damit sie in der zweiten Reifeteilung wieder als langgestreckte Chromosomen mit angedeuteter Querteilung auftreten können?

Ich habe diese Umwandlungen leider nicht beobachtet, kann aber unter Berücksichtigung der Verhältnisse, die wir später bei der Ausstossung der Richtungskörper kennen lernen werden, einen homologen Vorgang auch bei der Reifeteilung der männlichen Geschlechtszellen annehmen, besonders da ja auch Struckmann schon bei *Strongylus filaria* gleiche Vorgänge aufgedeckt hat.

Nach seinen Beobachtungen spaltet sich die Dyade schon in der Anaphase der ersten Reifeteilung dem anfangs angedeuteten

Längsspalt entsprechend auf; „oft ist der Spalt zwar nur als zwei Zipfel erkennbar. Die Hälften der Dyaden weichen nun am einen Ende weiter voneinander und indem sie sich verkürzen, liegen sie nicht mehr mit dem Längsspalt aneinander, sondern sind hintereinander geordnet“.

Ebenso müssen sich die Umwandlungen auch bei Sclerostomum abspielen, denn gesetzt den Fall, die Dyaden wanderten unter einer Drehung von 90° in die Äquatorialplatte der zweiten Reifungsspindel, wie dies schon mehrfach beobachtet worden ist, so könnten die Chromosomen unmöglich fast die gleiche Länge wie die der ersten Reifeteilung aufweisen.

Liesse sich somit die Form und Stellung der Chromosomen in befriedigender Weise erklären, so stossen wir in den Anaphasen der zweiten Reifeteilung abermals auf wider Erwarten vorkommende Verhältnisse; denn wir finden absolut die gleichen Bilder wie bei der ersten Reifeteilung, auch hier hin und wieder deutlich das Zurückbleiben eines Chromosoms. Obwohl also diesmal eine Teilung sämtlicher Chromosomen in gleicher Weise stattfinden sollte, doch eine verschiedenartige Bewegung und zwar in dem Maße, dass die von Gutherz betonte „sozusagen physiologische Breite der Abweichung“ bei weitem überschritten war, und wir mit Recht von einer Heterokinese sprechen dürfen.

Wir müssen dementsprechend entweder annehmen, dass die Teilung eines Monosoms an und für sich schwerer und langsamer von statten geht oder aber unsere obige Behauptung, dass einer heterotypischen Bewegung in der Mitose keine Chromosomendifferenz zugrunde zu liegen braucht, von neuem bekräftigen.

Die andere Erklärung, auf welche ich oben schon andeutungsweise aufmerksam machte, wäre folgende: Berücksichtigen wir unsere Beobachtungen bei der ersten und zweiten Reifeteilung, in der sich beide Male vereinzelte Heterokinesen auffinden liessen, so konnte man, wenn man der heterotypischen Bewegung der Chromosomen grossen Wert beimisst, annehmen, dass die Teilung des betreffs seines Querspaltes ja stets gleich gelagerten Monosoms sowohl in der ersten wie in der zweiten Reifeteilung stattfinden könnte. Hierdurch würde sich einerseits der Mangel eines gleichmässig verteilten fünf- und sechsgliedrigen „Rosettenstadiums“ in der zweiten Reifeteilung erklären lassen, andererseits liesse sich dieser Vermutung aber auch die Tatsache zur Seite stellen,

dass bei einigen Tieren die Heterokinese in der ersten, bei anderen in der zweiten Reifungsteilung auftritt. Jedenfalls würde ja auch bei wechselndem Vorkommen der „ungleichen“ Teilung stets der gleiche Schlusseffekt erzielt werden.

Ein Grund für dieses unregelmässige, scheinbar beliebige Verhalten des Monosoms liesse sich freilich nur schwer angeben, es sei denn, dass derselbe in der abweichenden Stellung des kleinen Chromosoms im Rosettenstadium läge. Denn das eine steht ja fest, tritt bei *Sclerostomum* eine heterotypische Bewegung auf, so zeigt sich das zurückbleibende Chromosom im Gegensatz zu *Heterakis vesicularis* stets in der Mitte, niemals dagegen an der Seite! Die Frage nach der Reduktion des Chromatins, bei der die meisten Forscher im Grunde genommen nicht über Vermutungen hinausgekommen sind, findet bei der von uns angewandten Hertwigschen Terminologie in sich selbst ihre Lösung, da die Reduktion des Chromatins nur mit der Reduktion der Chromosomenzahl, d. h. in der zweiten Reifeteilung, erfolgen kann.

d) Der Umbildungsprozess der Spermatiden in das befruchtungsfähige Spermium.

Die aus der zweiten Reifeteilung hervorgegangenen Chromosomen liegen wieder dicht aneinander, gerade so, wie wir es schon nach der ersten Reifeteilung beobachten konnten: sie sind von nun ab nicht mehr zählbar, sondern stellen je nach der Aufsicht des Beobachters einen einheitlichen Chromatinklumpen von bald dreieckiger, bald fünfeckiger Gestalt dar. Dieser Klumpen oder Kern, der von keiner Membran umgeben ist, rundet sich allmählich ab, wird dadurch kleiner und liegt noch eine längere Zeit im Zentrum einer polygonalen Zelle, die wir als Spermatide zu bezeichnen haben (Taf. IX, Fig. 37 a—f).

Scheben, der als erster den Ausdruck „Kern“ für die Chromatinansammlung der Spermatiden rügt, kommt zu dem Schluss: „Kern“ nenne ich beim Spermatid die chromatischen Elemente + Kernvakuole, für die chromatischen Elemente behalte ich die Bezeichnung „Chromosoma“ bei.“

Dieser Ansicht schliesst sich auch Struckmann an, da auch er bei *Strongylus filaria* das Chromatin der Spermatide von einem „homogenen Hof“ umgeben findet. Ich kehre jedoch zu der alten, wenn auch ungenauen Bezeichnung zurück und ver-

stehe unter „Kern“ der Spermatide nur das Chromatin, da ich dasselbe zwar in einer etwas helleren Plasmazone sah, die aber keineswegs scharf abgegrenzt war.

Die weiteren Veränderungen an der jungen Spermatide führen nun nicht, wie man vielleicht annehmen könnte, in gerader Richtung ihrem Endziele der typischen, kugeligen Spermatozoenform der Nematoden zu, sondern zu einer grossen Reihe teils ganz extremer Entwicklungsstadien, bevor das reife, befruchtungsfähige Spermium ausgebildet wird.

Diese merkwürdige und in ihrem Resultat noch nicht völlig aufgedeckte Erscheinung ist von anderen Nematoden her schon lange bekannt und von Leuckart in seinem Werke „Menschliche Parasiten“ hervorgehoben worden.

„Bei der Mehrzahl der Nematoden“, schreibt Leuckart, „erliegen diese Samenkörper noch einer nachträglichen Metamorphose. Sie ist bei den einzelnen Arten mehrfach verschieden und läuft in der Regel erst in den Geschlechtsorganen des weiblichen Tieres ab. Bei den Strongyliden nimmt das Samenkörperchen durch Streckung des Protoplasmas eine bald birnenförmige, bald auch schirmförmige oder zylindrische Gestalt an . . . Der Kern liegt dann nicht selten in Stäbchenform an dem einen Ende des Samenkörpers.“

Bei der Metamorphose des Sclerostomidenspermiums lassen sich nun zwei Hauptstadien unterscheiden, nämlich: 1. in der Vesicula seminalis des Männchens die Ausbildung langgestreckter Spermatiden, die ich als „Ejakulationsstadien“ bezeichnen möchte, und 2. im Uterus die Umbildung des Ejakulationsstadiums in das kugelige „Befruchtungsstadium“ oder reife Spermatozoon.

1. Die Ausbildung der Ejakulationsform.

Der kuglige Kern der Spermatide beginnt nach einer längeren Ruhepause nach der Zellperipherie zu wandern, bevor er jedoch dieselbe erreicht hat, tritt eine Streckung der Spermatide ein und zwar in einer der Kernbewegung entgegengesetzten Richtung (Taf. IX, Fig. 38 a und b). Hierdurch wird aus der polygonalen Samenzelle ein kurzer, wurstförmiger Körper, an dem man eine heteropole Hauptachse unterscheiden kann, deren einer Pol vom Kern eingenommen wird.

Während nun der Kern in gleicher Richtung weiter der Zellperipherie zustrebt, geht seine Gestalt in eine ovale, schliesslich zuckerhutförmige über (Taf. IX, Fig. 39 a und b). Das Cytoplasma, das ihn bislang umlagerte, ist bis auf eine feine, dünne Randschicht reduziert und liegt zum grössten Teil als breiter, plumper Anhang hinter ihm.

Es ist leicht verständlich, dass man bei weiterer Streckung des Plasmas die folgenden Stadien nicht mehr an Schnittpräparaten verfolgen kann; ich machte daher von frisch geöffneten Hoden Ausstriche und fixierte diese in Osmiumsäuredämpfen 1—2 Minuten. Derartig gewonnene Präparate färbte ich meist mit Giemsa-Lösung, May-Grünwald-Lösung oder auch Böhmers Hämatoxylin.

Diese Ausstriche ergaben stets sehr instruktive Bilder, die jedoch teils so weit von den Schnittpräparaten abwichen, dass ich bei der Besprechung dieser Methode noch einen Augenblick verweilen muss.

Am auffälligsten war jedenfalls der Grössenunterschied; so zeigten z. B. junge Spermatiden, deren Durchmesser an Schnittpräparaten nie mehr als $4\ \mu$ betrug, eine Grösse von 6 bis $10\ \mu$. In gleichem Maße erschien aber auch das Chromatin umfangreicher und vor allen Dingen nicht so kompakt. Die Kerne der jungen Spermatiden liessen bei der Giemsa-Färbung stets ein sehr feines, ziemlich lockeres Knäuel erkennen, das ich bis in das zuckerhutförmige Kernstadium verfolgen konnte; erst von hier ab erschien der Kern, indem er allmählich an Tinktionsfähigkeit verlor, homogen und unterschied sich betreffs seiner Grösse kaum von den Kernen der Schnittpräparate (Taf. IX, Fig. 40—42).

In Anbetracht dieser differenten Chromatinbilder machte ich auch von den Reifeteilungen Ausstriche, die gleichfalls wesentliche Abweichungen darboten. Ich gebe aus diesen Präparaten eine Mitose wieder (Taf. IX, Fig. 43), einerseits zum Vergleich mit meinen übrigen Figuren, andererseits aber, um auf die grosse Ähnlichkeit mit den von Gulick für *Heterakis vesicularis* abgebildeten Verhältnissen hinzuweisen, die aus meinen Schnittpräparaten niemals hervorgegangen wäre.

Es ist mancherlei für und wider die Ausstrichpräparate gesprochen worden, und ich habe teils selbst die Überzeugung gewonnen, dass manche Verhältnisse, wie z. B. die Lagerung der

Chromosomen, sicherlich künstlich verändert werden; immerhin glaube ich aber, dass sie neben Schnittpräparaten gut zu verwenden sind. Vielleicht würden durch Ausstriche manche Meinungsverschiedenheiten, die im Grunde auf eine etwas andere Behandlungsmethode des Materials zurückzuführen sind, aus dem Wege geräumt werden, denn das eine geht doch aus obigem klar hervor: Unsere Objekte büßen durch die Fixationsmethoden und besonders durch die weitere Behandlung viel an Realität ein.

Wir hatten die Spermatiden bis zur zuckerhutförmigen Kernbildung kennen gelernt, betrachten wir nun die weiteren Verhältnisse an Ausstrichen.

Die Spermatide, die wir jetzt schon mit Recht als wurmförmig bezeichnen können, streckt sich immer mehr und geht dadurch aus ihrer anfangs plumpen Gestalt in eine schlanke, meist gewundene Form über. Die den vorn zugespitzten, hinten sich allmählich wieder abrundenden Kern umhüllende Plasmanschicht ist so fein geworden und liegt dem Kern so dicht auf, dass sie nicht mehr wahrnehmbar ist. Unmittelbar hinter dem Kern, den wir dem Kopf des Wirbeltierspermiums gleichsetzen können, findet sich eine seichte Einbuchtung des — wie ich stets sagen werde — „wurm förmigen Plasmaanhangs“, wodurch der Kopf noch mehr hervortritt (Taf. IX, Fig. 44 a—d).

Der wurmförmige Anhang hat an Färbbarkeit stark verloren und streckt sich etwa acht- bis zehnmal so lang als der Kopf nach hinten; er hat eine warzige Oberfläche und zeigt am Hinterende eine keulenförmige Verdickung.

In diesem Protoplasma-Anhang konnte ich häufig bei den verschiedensten Färbmethoden Körperchen feststellen, von denen am konstantesten ein sichel- oder kappenförmiges im angeschwollenen Hinterende war.

Bei der Heidenhainschen Färbung erschienen oft zahlreiche, wenn auch schwach tingierte Körnchen, die im ganzen Plasma-Anhang verteilt waren (Taf. IX, Fig. 45 a—c), während bei einem Sclerostomum vulgare sowohl Safranin wie Gentianaviolett an den ersten Umwandlungsstadien einen stark gefärbten, stabförmigen Körper zu erkennen gab, der aus dem Kern hervorging und am hinteren Ende allmählich in die Plasmafärbung überging (Taf. IX, Fig. 46 a—d).

Es legt dies die Vermutung nahe, dass ein Teil des Chromatins in den wurmförmigen Anhang einwandert, was ohne Schaden für die Chromatinmasse geschehen könnte, da, wie wir des weiteren sehen werden, der Anhang nicht wie der Schwanz des Wirbeltierspermiums beim Eintritt ins Ei verloren geht.

Bei einem nach May-Grünwald gefärbten Ausstrich zeigte auch der Kern zwei differente Zonen. Der grössere Teil des Kopfes erschien blass rosa, während kurz vor dem Plasma-Anhang eine dunkler gefärbte Partie lagerte (Taf. IX, Fig. 47). Ich glaube dieser Differenz keine weitere Bedeutung zusprechen zu dürfen und möchte auch von vornherein die Annahme, es könne sich hier vielleicht um ein Centrosom entsprechend dem Wirbeltierspermium handeln, zurückweisen. Denn einerseits ging aus der Grösse des besagten Körpers die untrennbare Zugehörigkeit zum Kern zu klar hervor, andererseits wäre es doch höchst merkwürdig, wenn gerade an dieser Stelle das Centrosom auftreten sollte, wo es sonst während der ganzen Spermiogenese wegen seiner minimalen Grösse nur wenig auffiel.

Mit dieser lang wurmförmigen Gestalt ist das Ende der Spermatidenentwicklung im Hoden, d. h. das „Ejakulationsstadium“, erreicht, das in ungeheuren Mengen wirr durcheinander geschlungen die Vesicula seminalis des Männchens erfüllt, bereit in die weiblichen Geschlechtsorgane übergeführt zu werden.

Da ich bei allen drei Arten, die ich untersuchte, diese so eigentümliche Form wiederfand, verdient sie wohl als besonders wichtiges und auffälliges Merkmal der Sclerostomiden-Familie hervorgehoben zu werden.

2. Die Ausbildung der Befruchtungsform.

Öffnet man ein Weibchen von Sclerostomum, so findet man im untersten Teil des Uterus das gleiche Bild wie in der Vesicula seminalis, das Pöppel mit folgenden Worten beschreibt:

„Die sowohl in der Samenblase wie im Endteil der weiblichen Genitalröhre vorhandenen männlichen Geschlechtsprodukte weichen ebenfalls von der sonst bei Strongylyden gewöhnlichen Form erheblich ab und ähneln den von Leuckart bei Oxyuris ambigua abgebildeten. Man kann an diesen Spermatozoen deutlich einen Kopf und einen schwanzartigen Anhang unterscheiden. Von der Gesamtlänge von 36,8 μ kommen auf den kugligen, einen

blassen Kern enthaltenden Kopf 2.4μ . Der Schwanzanhang erreicht an seiner breitesten Stelle (etwas über der halben Länge) eine Breite von 1.5μ und lässt manchmal eine leichte Querstreifung erkennen."

Ein Blick auf Pöppels Taf. I, Fig. 13c genügt, um zu erkennen, dass er den beobachteten Spermien eine falsche Deutung gegeben hat. Wahrscheinlich verleitet durch die Leuckartschen Angaben bei *Oxyuris* hält Pöppel das keulenförmige Ende des Plasmaanhanges für den Kopf. „Der blasse Kern“ entspricht augenscheinlich dem von mir oben beschriebenen sichel- oder kappenförmigen Körper, während die „leichte Querstreifung“ den Körnchen im ganzen Protoplasmaanhang oder seiner warzigen Oberfläche gleichwertig sein dürfte.

Immerhin ist es ja höchst auffällig und unverständlich, dass Pöppel der sich nach den meisten Methoden stark färbende Kern nicht aufgefallen ist. Vielleicht liesse sich dieser Mangel dadurch erklären, dass Pöppel, der ja der Spermio- und Oogenese überhaupt nur geringes Interesse entgegengebracht hat, die Reifung der Spermatiden an Präparaten studiert hat, die für andere Zwecke angefertigt waren und die Kernverhältnisse nur schlecht hervortreten liessen.

Die ejakulierte Spermamasse hat, wie schon gesagt, eine abermalige und zwar reziproke Entwicklung durchzumachen. Folgt man dem Uterus aufwärts, so sieht man, wie sich das Spermaknäuel allmählich entwirrt, indem sich jede Spermatide mit ihrem kugligen Ende an die Wand des Uterus anheftet und den Kopf in das Lumen desselben vorstreckt. Dabei sind schliesslich die einzelnen Spermatiden so genau einander parallel gerichtet und besetzen das gesamte Uterusepithel so dicht, dass ich sie anfangs für Zotten, entsprechend den bei *Ascaris megalocephala* beschriebenen, hielt, bis ich aus dem weiteren Entwicklungsverlauf den wahren Tatbestand erkannte (Taf. IX, Fig. 48).

Legte schon die Ausbildung der schlanken Ejakulationsform den Gedanken einer leichten Beweglichkeit nahe, so liess mich diese zweifellos eine aktive Bewegung voraussetzende Wanderung der Spermatiden im Uterus nicht mehr an meiner Vermutung zweifeln.

Ich untersuchte daher in der von Strubell für *Heterodera Schachtii* angegebenen Weise die der Vesicula seminalis oder auch

dem unteren Uterusteil entnommenen Spermmassen in einer $\frac{1}{2}$ proz. NaCl-Lösung, aber leider ohne Erfolg. Auch der Zusatz weiblicher Leibeshöhlenflüssigkeit zum Spermium brachte mich meinem Ziele nicht näher. Da Strubell die Spermatozoen bis zu 2 Stunden lebend erhalten konnte, so musste der Grund meines Misserfolges in den verschiedenen Lebensbedingungen der beiden Entoparasiten liegen. Die Sclerostomiden bedürfen eben einer Temperatur, die der eines Pferdes entspricht, welcher Umstand für Heterodera fortfällt.

Um diesen Bedingungen nach Möglichkeit gerecht zu werden, bediente ich mich des „hängenden Tropfens“ nach Art der Bakteriologen und beobachtete das Spermium auf einem heizbaren Objekttisch, der stets auf $35-40^{\circ}$ gehalten wurde. Der hohlgeschliffene Objektträger mit Vaselineering sowie das Deckgläschen wurden schon vorher auf 35° erwärmt, sodann ein gerade in copula befindliches Männchen geöffnet und, um ein vorzeitiges Eintrocknen zu verhindern, unter beständigem Behauchen die Geschlechtsprodukte aus der Vesicula seminalis auf das Deckglas übertragen und dieses schnell dem Vaselineering aufgedrückt.

Bei dieser Versuchsanordnung konnte ich denn auch an einzeln liegenden Spermatiden eine zitternde Bewegung des ganzen langgestreckten Körpers wahrnehmen, durch die allmählich die Spermatide fortbewegt wurde. Dass es sich hier um irgend welche Strömungserscheinungen gehandelt hat, die durch Verdunstung hervorgerufen sein könnten, lässt sich nicht annehmen, da ich beim Öffnen der kleinen „feuchten Kammer“ auch am folgenden Tage die Spermmassen noch in ihrer serösen Flüssigkeit vorfand.

Trotz alledem erscheint mir die beobachtete Bewegung für die oben geschilderte Wanderung der Spermatiden nicht ausreichend zu sein und ich halte es daher nicht für ausgeschlossen, dass unter den normalen Lebensbedingungen den Spermatiden eine grössere Beweglichkeit eigen ist.

Die an die Uteruswand angehefteten Spermatiden werden nun je weiter man den Uterus nach oben verfolgt wieder kürzer und zwar so gleichmässig, dass sie sich in ihrer Gesamtheit stets auf dem gleichen Entwicklungsstadium befinden. Ich habe diese Vorgänge, die sonst keine wesentlichen Veränderungen am Kern oder Plasmaanhang hervorrufen, in Fig. 49 a—e, Taf. IX, wieder-

gegeben, die aus einem Ausstrich herrühren. Das kuglige Ende des wurmförmigen Anhangs tritt zuletzt etwas stärker hervor und in diese Blase, den Rest des Protoplasmas, das jetzt seine Färbbarkeit völlig verloren hat, wird der immer noch gestreckte Kern hineingezogen, so dass sich das befruchtungsreife Spermatozoon als eine Kugel darstellt, in deren Innerem ein länglicher Stab, der Kern, liegt.

Es ist somit die Vermutung O. Meyers, dass „der Hof“, welcher den Spermakern von *Sclerostomum tetracanthum* umgibt, aus „achromatischer Substanz des Plasmas gebildet werde“, durchaus richtig. Bei den meisten Fixationsmethoden nimmt das Kernplasma freilich eine ellipsoide Gestalt an und so ist auch von O. Meyer das Sperma von *Strongylus tetracanthus* beschrieben worden.

Hiermit sind also die Entwicklungsvorgänge der männlichen Geschlechtszelle abgeschlossen, und ich werde erst bei Besprechung der Eibefruchtung auf die weiteren Schicksale des Spermis zurückkommen.

e) Allgemeine Erörterungen die Umbildung und Maße der Spermatiden betreffend.

Bevor ich jedoch zur Oogenese übergehe, halte ich es für gerechtfertigt, dieser so hochinteressanten Spermatidenentwicklung noch ein paar Worte im allgemeinen zu widmen.

So ist zuerst die Frage zu erledigen: Wie schildert Pöppel diese seltsamen Vorgänge in seiner Arbeit über *Strongylus armatus*? Zweitens: Was für eine Bedeutung hat die Ausbildung der langgestreckten Spermaform, wenn sie nicht ein Mittel zur leichteren Befruchtung darstellt? Und drittens: Sind die kugligen Formen wirklich die befruchtenden oder vielleicht degenerierte Spermatozoen?

Die erste Frage ist leicht zu beantworten. Von den ganzen Entwicklungsvorgängen im Uterus finden wir bei Pöppel kein Wort und die einzige Stelle, die vielleicht auf eine ähnliche Beobachtung hinweisen könnte, sei im folgenden wiedergegeben: „In der hier beschriebenen Form — es handelt sich um die schon oben zitierte Schilderung — präsentieren sich die dem lebenden oder eben getöteten Wurm entnommenen Spermatozoen jedoch nicht immer. Daneben findet man oft solche, bei denen sich der Schwanz ösenartig an das Köpfchen anlegt und nur wenig über

letzteres hinausragt (Fig. 13c). Seltener lassen sich Formen auffinden, bei denen das völlig zusammengerollte Samenelement wie der Embryo im Ei in einer äusserst feinen, glashellen, strukturlosen Hülle liegt (Fig. 13a). Dass diese verschiedenen Gestalten jedoch ausgebildete und normale Entwicklungszustände repräsentieren, wage ich nicht zu behaupten."

Sowohl aus dieser Schilderung wie aus den Fig. 13a und c, Taf. I, geht mit Sicherheit hervor, dass Pöppel entweder Kunstprodukte beobachtete, die er wegen ihrer kugligen Form auf das typische Nematodenspermium zurückzuführen suchte und deshalb erwähnt oder aber Stadien vor Augen hatte, bei denen der Kern schon fast ganz in den blasigen Anhang eingezogen war und sich letzterem seitlich angelegt hatte, wie man dies hin und wieder findet. Wie wenig Realität er seinen eigenen Beobachtungen zutraut, das beweist zur Genüge der letztzitierte Satz.

Die richtige Antwort auf die zweite Frage zu finden, ist dagegen schwierig und ohne hypothetische Voraussetzungen kaum zu erbringen.

Struckmann, der bei *Strongylus filaria* nicht minder komplizierte Entwicklungsvorgänge antraf, durch die sich in der *Vesicula seminalis* die Spermatide nach Ausstossung zweier Plasmakörper in eine langgestreckte, birnförmige Gestalt verwandelt, hat nur die Plasmaveränderung in Betracht gezogen und kommt daher zu dem scheinbar berechtigten Schluss, dass es sich nur um die Erzielung einer Spermaform handelt, „der man dem Bau nach eine grössere Beweglichkeit zumuten darf, als der bedeutend grösseren und plumperen Form der Vorstadien“.

Dass die schlanke Form nicht unbedingt leichte Beweglichkeit verbürgt, haben wir oben schon erfahren. Ich glaube daher, dass die Beweglichkeit der Spermatiden erst an zweiter Stelle Berücksichtigung finden darf, der Hauptzweck jener Ausbildung dagegen auf einer anderen Seite zu suchen ist.

Die keulenförmige Anschwellung des Plasmaanhanges sowie die nachher beobachtete Anheftung mittels desselben bestimmten mich zu der Annahme, dass die — wie ihre weitere Umwandlung andeutet — zweifellos noch nicht voll entwickelten Spermien im Uterus einem längeren Reifeprozess unterliegen und hierfür die zweckmässigste Gestalt zur Ausbildung gelangt, die nicht nur vereinzelt Spermatiden, sondern der ganzen Masse einen sicheren

Platz im Uterus verbürgt. Im Gegensatz zu *Strongylus filaria* wird aber bei *Sclerostomum* der Plasmakörper zur weiteren Ernährung verbraucht und dabei in seiner Gesamtheit bei Bildung der schlanken Form, die nebenher eine leichtere Übertragung in die weiblichen Geschlechtsorgane gestattet, beibehalten.

Da nun das Spermaknäuel das Ende des Uterus gleichsam verstopft und einerseits den Austritt schon befruchteter Eier verhindert, andererseits aber der Gefahr unterliegt, in toto hinausgedrängt zu werden, so ordnen sich die Spermatiden in bekannter Weise. Hierdurch wird sowohl die günstigste Platzausnutzung erzielt als auch im Zentrum des Uterus eine freie Passage für die Eier geschaffen.

Sollte man ausser der blossen Anheftung mit dem Hinterende auch eine Ernährung von der Uteruswand aus vermuten, so liesse sich hiergegen einwenden, dass man weder in anderen Klassen des Tierreiches noch bei Nematoden eine solche Befestigungsweise beobachtet hat, vielmehr finden wir gerade, dass sich die *Ascarisspermien* mit dem Kopf an die Zotten der Uteruswand anlegen, freilich abgesehen von der Schebenschen Behauptung, dass der Kern bei *Ascaris* dem Hinterende des Spermas entspricht. Zieht man aber in Erwägung, dass das Uterusepithel bei *Sclerostomum* der Zotten, somit der Zufluchtsstätte der Spermatozoen, völlig ermangelt, so ist es wohl denkbar, dass sich die Spermatozoen in diesem Falle mit der breitesten Partie ihres Körpers, d. h. mit dem Hinterende und nicht mit dem spitzen Kopf, anheften werden; eine Befestigung mit der gesamten seitlichen Länge des Körpers kommt nicht in Betracht, da sie eine weit grössere Uterusfläche zur Voraussetzung haben müsste.

Die dritte aufgeworfene Frage lässt sich in befriedigender Weise von mehreren Gesichtspunkten aus entscheiden.

Für die kuglige Form als Befruchtungsstadium spricht a priori die Beobachtung an anderen Nematoden, bei denen ja mit Ausnahme von *Oxyuris ambigua* immer nur kuglige oder ellipsoide, mindestens dieser Gestalt sehr ähnliche Spermatozoen gefunden worden sind. Ausserdem befinden sich aber die Eier, die an den noch wurmförmigen Spermien vorbeipassieren, stets in vorgeschrittenen Teilungsstadien, während die ungeteilten Eier im obersten Uterusabschnitt nur auf kuglige Spermatozoen stossen. Ganz hinfällig wird aber obige Annahme durch das Experiment.

Untersucht man einen frisch herauspräparierten Uterus wie das Sperma bei der gleichen, oben geschilderten Versuchsanordnung auf dem heizbaren Objektisch, so lässt sich an dem Abheben der Eihülle vom Eiplasma erkennen, dass die in den Uterus eintretenden Eier sehr bald befruchtet werden müssen.

Einen solchen Befruchtungsvorgang habe ich trotz zahlreicher Versuche zwar nur einmal beobachten können, was sich vielleicht aus folgendem erklären lässt. Da der Uterus besonders an der Mündung des Eileiters sehr dickwandig ist und somit für starke Vergrösserungen undurchsichtig, so sah ich mich gezwungen, denselben vorher aufzuschlitzen. Dabei trat der grösste Teil der Eier heraus und es vermischten sich sämtliche Stadien befruchteter und unbefruchteter Eier untereinander. Findet also die Befruchtung schon im Anfangsabschnitt des Uterus statt, d. h. bald nach dem Eintritt des Eies, so wird es sehr schwer sein, eins dieser wenigen Eier — denn normalerweise treten sie einzeln hintereinander in den Uterus ein — unter der Masse der übrigen herauszufinden. Ausserdem kommt noch hinzu, dass das Ei selbst mit seinem Dotter das eindringende Spermium verdeckt. Dieses ist nämlich in frischem Zustand hyalin und man erkennt meist nur einen schwach bläulichen, langgestreckten Kern.

Der von mir beobachtete Befruchtungsakt spielte sich im Anfangsteil des Uterus ab, letzterer war in diesem Fall nicht aufgeschlitzt worden und, da er nur wenig Eier enthielt, leidlich durchsichtig. Das Ei zeigte eine etwas vom Plasma abgehobene Hülle. In dem dadurch entstandenen Zwischenraum befand sich ein Körper, der halbkuglig über das Eiplasma hervorragte, während ein pseudopodienartiger Fortsatz schwach im Eiplasma sichtbar war. Allmählich drang nun dieser Körper amöboid weiter in das Innere des Eies vor, während der sehr grosse, blasige Eikern auf der entgegengesetzten Seite des Eies ruhte. Der Spermakörper, denn nur um einen solchen konnte es sich hier handeln, der anfangs in seiner amöboiden Gestalt eine ziemliche Fläche einnahm, rückte bis fast ins Eizentrum vor, wurde unter bedeutender Volumenverminderung kuglig, dabei kompakter und somit zugleich sichtbarer; in seinem Innern zeigte er punktförmige Elemente, vielleicht Chromosomen, die ja auch Mulsow neuerdings am lebenden Spermium von *Ancyracanthus cystidicola* beobachten konnte. Währenddessen rückte der Eikern, indem er

selbst etwas kleiner wurde und einen bläschenförmigen Körper aufwies, etwas gegen das Zentrum vor, kam jedoch dann bald zur Ruhe.

Der ganze Vorgang spielte sich in einem Zeitraum einer $\frac{3}{4}$ Stunde ab; weitere Veränderungen konnte ich trotz 2stündiger Beobachtung nicht mehr bemerken.

Wenngleich es mir also nur einmal geglückt ist, den Befruchtungsvorgang zu verfolgen, so ist es doch so gut wie bewiesen, dass eben die kugligen Spermatozoen keine degenerierten Formen, sondern die reifen, befruchtenden sind, während die wurmförmige Gestalt nur ein Übergangsstadium darstellt.

Ich möchte nun am Schluss der Spermiogenese noch auf folgende Beobachtung zu sprechen kommen. Es sind im Uterus, wie wir gesehen haben, stets sämtliche Entwicklungsstadien lückenlos anzutreffen, die, da man doch in beiden Uteri die gleichen Verhältnisse vorfindet, eine ungeheure Spermaquantität voraussetzen, welche der in der Vesicula seminalis nicht äquivalent zu sein scheint. Es ist daher durchaus unwahrscheinlich, dass die gesamte Spermamasse einem einzigen Ejakulat entsprechen sollte, und man muss wohl annehmen, dass entweder jedes Weibchen von mehreren Männchen nacheinander aufgesucht wird oder aber ein Männchen verweilt längere Zeit in Kopulation und die Spermamasse rührt von mehreren Ejakulationen her.

Ich halte letztere Annahme für die wahrscheinlichere, obwohl ich keinen strikten Beweis hierfür erbringen kann. Trifft man nämlich überhaupt Männchen, so befinden sie sich so gut wie immer in Kopulation und haften durch eine bräunliche Kittsubstanz fest der weiblichen Vulva an, wie ich dies oben schon erwähnt habe.

Es wäre also wohl denkbar, dass die Pärchen längere Zeit, vielleicht einige Wochen, in copula verharren, und dass, sobald die Vesicula seminalis des Männchens durch Zuwachs wieder gefüllt ist, eine Ejakulation stattfindet. Für eine solche Periodizität haben wir ja in dem Entwicklungsverlauf mancherlei Anzeichen gefunden. In der Pause zwischen zwei Ejakulationen könnte nun ein Teil des im Uterus befindlichen Spermas seine weitere Entwicklung durchgemacht haben, und es liesse sich so die ganze Reihenfolge sowie die Quantität der Spermatozoen erklären.

Der Einwand, dass dem Weibchen hierdurch die Möglichkeit geraubt würde, seine Geschlechtsprodukte abzusetzen und neue Eier in den Uterus eintreten zu lassen, ist insofern nicht allzu schwerwiegend, da ja die Kopulationszeit immerhin nur von beschränkter Dauer ist, die Kapazität des Uterus dagegen so beträchtlich, dass er schon einer grossen Eimenge Raum gewähren könnte.

Dass jedoch ein Weibchen von mehreren Männchen aufgesucht werden sollte, will mir schon wegen der festen Verbindung der beiden nicht sehr einleuchtend erscheinen, obgleich sich hierdurch wieder die geringe Anzahl der männlichen Individuen verstehen liesse. Experimentell diese Verhältnisse zu klären, scheint mir so gut wie ausgeschlossen.

Ich glaube hiermit die bei der Spermiogenese von mir in Betracht gezogenen Fragen genügend klar gelegt zu haben und gehe nun zur Besprechung der Eientwicklung über.

Die Entwicklung der weiblichen Geschlechtsprodukte.

a) Die Keimzone.

Wie bei allen anderen untersuchten Nematoden ähnelt das blinde Ende der Eiröhre von *Sclerostomum* dem des Hodens so sehr, dass ich auf die obige Schilderung verweisen kann, nur kleine und nicht leicht in die Augen fallende Differenzen mögen hier noch Erwähnung finden. So wäre zuerst hervorzuheben, dass die Ureier durchschnittlich etwas grösser sind und besonders bei der Böhmerschen Hämatoxylinfärbung den achromatischen Faden, auf dem die chromatischen Brocken perlschnurartig liegen, deutlicher zeigen als die Ursamenkerne.

Die weiteren Entwicklungsphasen verlaufen dagegen in der gleichen Weise, nur mit dem Unterschiede, dass sich beim Weibchen aus dem verstreuten Chromatin zwölf kurze stäbchenförmige Chromosomen ausbilden (Taf. IX, Fig. 52).

Ich kann hierfür jedoch absolut keine einwandfreien Bilder bringen, denn da diese Stäbchen schon auf dem frühesten Entwicklungsstadium einen mehr oder minder deutlichen Querspalt aufweisen, so wird hierdurch die Sicherheit des Zählens sehr beeinträchtigt. Sobald nämlich eins der peripher stehenden Stäbchen nicht senkrecht, sondern schräg zur Schnittebene steht, lässt es

sich nicht mehr entscheiden, ob man zwei dicht nebeneinander stehende Chromosomen oder nur die beiden Teile ein und desselben Chromosoms vor sich hat.

Eine Äquatorialplatte in der Polansicht, in der ich beim Männchen am besten die Zahl der Chromosomen feststellen konnte, fand ich leider kein einziges Mal, obwohl ich 12 Weibchen mikrotomierte, d. h. gegen 24 Keimzonen studierte.

Zieht man aber die weiter unten noch zu besprechenden Beobachtungen bei der Bildung der Richtungskörper zu Hilfe, so erscheint mir die Bestimmung zu zwölf Chromosomen mittels eines Analogieschlusses nicht für allzu gewagt.

Nähert man sich dem Ende der Keimzone, so trifft man auf das erste leichte Unterscheidungsmerkmal zwischen Hoden und Ovarium. Fanden wir dort bei einem Querschnitt etwa acht bis zehn Kerne auf einem Radius, so sind es hier höchstens vier bis fünf (vgl. Taf. VIII, Fig. 9 und 10); die Ovarialröhre ist dementsprechend bedeutend dünner, was mit der feineren Rhachisbildung zusammenhängt, andererseits ist die Keimzone beim Weibchen aber auch länger als beim Männchen.

Im Eierstock konnte ich auch wieder die Zwischenkörperchen auffinden und zwar nicht nur wie beim Männchen peripher, sondern überall zwischen den Oogonienkernen verteilt, überdies in den verschiedensten Entwicklungsphasen, wie wir sie schon durch O. Hertwig kennen gelernt haben. Freilich ist der Vorgang bei *Sclerostomum* insofern etwas anders, als es noch zur Bildung einer Kernmembran kommt, aber von Anfang an bleibt der Kern hinter der Grösse auch der gerade gebildeten Tochterkerne zurück. Überdies erscheinen die Chromosomen verschwommen und das gesamte Caryoplasma färbt sich mit Böhmers Hämatoxylin schwach violett (Taf. IX, Fig. 53). Aus diesen Bildern allein liesse sich eine Caryolyse noch nicht erraten; sie wird erst durch die folgenden Stadien erkennbar (Fig. 53 b—d).

Die Chromatinbrocken verlieren immer mehr ihre Kontur, stossen aneinander und bilden nach und nach einen mehr oder minder zackigen Chromatinklumpen, der sich in einem weiteren Stadium abrundet und schliesslich zu einer Vakuole wird.

In dieser Form findet man die Körperchen bis weit in die Wachstumszone hinein und Struckmann bildet sie auch von

Strongylus filaria in seiner Textfigur D ab, ohne sie in seiner Arbeit zu erwähnen.

Eine scharfe Grenze lässt sich zwischen Keim- und Wachstumszone wiederum nicht ziehen. Denn da nach Flemming das Ende der Teilung mit der Auflösung des Tochterknäuels zusammenfällt, so müsste man die Keimzone bis kurz vor Beginn des Oviduktes rechnen, was aber, wie die weitere Entwicklung zeigen wird, widersinnig erscheint.

b) Die Wachstumszone.

Haben die Ureier, wie oben erwähnt, ihre letzte Teilung durchgemacht, so tritt im Kern ein feines lockeres Gerüst auf, in dem hie und da Chromatinbrocken, die früheren Chromosomen, ruhen (Taf. IX, Fig. 54).

Erfüllte das Kerngerüst bisher das ganze Kernlumen, so zieht es sich jetzt zusammen, das Chromatin verteilt sich auf ihm und es stellt sich nun als ein dichtes färbbares Fadengewirr dar, das meist an die Peripherie des Kernes gerückt ist, manchmal jedoch auch im Zentrum angetroffen wird (Taf. IX, Fig. 55). Wir haben also hier ein typisches dichtes Spiremstadium vor uns, das bei seiner weiteren Entwicklung den Eindruck macht, als solle es zu einer neuen Teilung des Kernes kommen.

Der bisher zackige Faden verdickt sich allmählich, wird homogen färbbar und wandelt sich schliesslich in ein lockeres Spiremstadium um (Taf. IX, Fig. 56).

Hiermit ist aber auch zugleich der Höhepunkt der Entwicklung erreicht; der Faden wird jetzt von Zeit zu Zeit wieder dünner und minder färbbar, während sich an den Zwischenstellen das Chromatin zu Punkten, nie aber zu Stäbchen anhäuft (Taf. IX, Fig. 57), so dass schliesslich ein Stadium erreicht wird, das dem in Fig. 54 dargestellten recht ähnlich sieht, nur dass hier der Faden stets glatt erscheint und niemals das zackige, ungleich tingierbare Aussehen erhält wie in obiger Figur.

Diese Chromatinbrocken verschmelzen jetzt miteinander und bald zeichnen sich ein oder zwei durch besondere Grösse vor den anderen aus. Die Fäden werden immer schwächer und sobald sämtliches Chromatin zu einem grossen, ovoiden Nukleolus verschmolzen ist, lässt sich von dem Fadengerüst so gut wie nichts mehr nachweisen (Taf. VIII, Fig. 11–12, Textfig. A, S. 205, Textfigur B und C, S. 238).

Dieser Zustand wird kurz vor der Ablösung der Geschlechtszellen von der Rhachis erreicht; der Nukleolus wird durch Eisen-hämatoxylin stark geschwärzt, während die Färbung mit Böhmer-schem Hämatoxylin bei weitem nicht so intensiv ist als bei in Teilung begriffenem Chromatin.

Mit dieser Chromatinverschmelzung Hand in Hand geht eine wichtige Veränderung der Kerngestalt vor sich. Bis zum lockeren Spiremstadium und dessen ersten Auflösungsphasen hatte der Kern stets die gleiche Grösse und Kugelform. Mit dem Augenblick aber, wo sich die eine Chromatinansammlung durch ihre Masse auszeichnet, nimmt der Kern die Gestalt eines Ellipsoides an, dessen Hauptachse mit dem Radius der Ovarialröhre zusammenfällt, gerade so wie wir es schon beim Männchen kennen gelernt haben.

Ich habe bisher nur die Veränderungen am Kern berücksichtigt und werde jetzt die cytoplasmatischen Vorgänge im Zusammenhang besprechen. Ich habe oben kurz darauf hingewiesen, dass sich etwa in der Mitte der Oogonienteilungen die ersten Zellgrenzen im Syncytium bemerkbar machen, ein Vorgang, den ich, wie bei der Rhachisbesprechung erwähnt, den tertiären Verzweigungen derselben zuspreche. Das Cytoplasma ist hier ausserordentlich gering und wird auch nur um wenig vermehrt, bis die Zellen in die Wachstumszone eintreten.

Hier gelingt es zum erstenmal besonders an den medial gelegenen Geschlechtszellen eine kegelförmige Gestalt zu konstatieren, deren Spitze nach der Rhachis hinweist, während der Kern an der Kegelbasis liegt. Je mehr nun die Zelle wächst, desto deutlicher wird die konische Form, bis schliesslich je ein Kegel von der zentralen Rhachis bis zur Ovarialwandung reicht (Textfig. A, S. 205)

Erschien das Cytoplasma bislang homogen, so machen sich jetzt an konserviertem und mit Böhmers Hämatoxylin gefärbtem Material hellere und dunklere Flecke bemerkbar, die auf eine vakuolenförmige Dotteransammlung im lebenden Zustande hindeuten. Dieses fleckige Aussehen nimmt mit der Vermehrung des Cytoplasmas an Deutlichkeit zu und bald treten zwischen den helleren Flecken überall zerstreut im Plasma kleine, von Anfang an stark mit Böhmers Hämatoxylin tingierbare Körnchen auf, deren Färbbarkeit sogar die des Chromatinnukleolus übertrifft

(Textfig. B). Die Geschlechtszellen haben sich von der Rhachis losgelöst — obwohl diese noch eine längere Zeit zwischen den Zellen zu verfolgen ist — und haben zugleich ihre Kegelform eingebüsst. Sie sind jetzt abgeflacht, scheibenförmig geworden

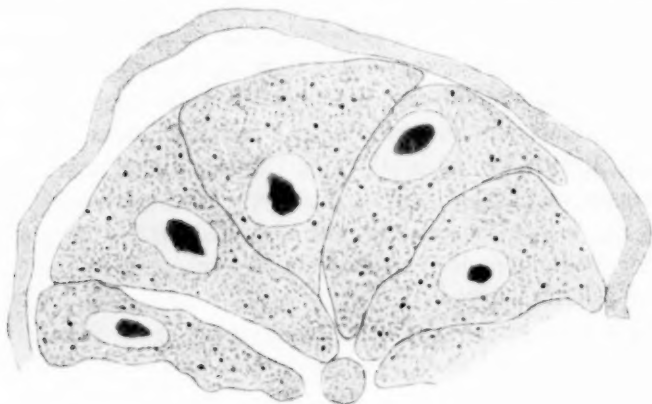


Fig. B.

und häufig bedeckt eine Basisecke die der nebenliegenden Zelle, so dass die jungen Eier etwa eine Stellung wie die Flügel eines Ventilators haben (Textfig. C).

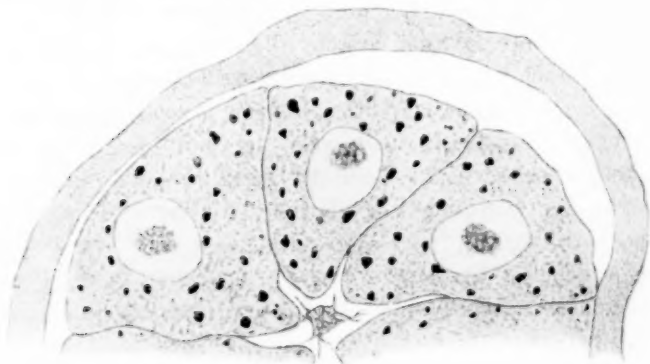


Fig. C.

Die weitere Entwicklung besteht jetzt nur noch in einem allgemeinen Grösserwerden der gesamten Teile, wobei besonders die stark färbbaren Körnchen im Cytoplasma in die Augen fallen.

Es sind ähnliche Gebilde von den verschiedensten Autoren in derselben Entwicklungsstufe des Eies beschrieben worden, stets aber auch unter einer anderen Bezeichnung.

Schneider, der diese Verhältnisse an lebenden und konservierten, aber ungefärbten *Ascariseiern* studierte, spricht von dem Erscheinen grosser, heller *Lecithinkügelchen*, die bei der Bildung der Richtungskörper verschwinden. Dieselben Gebilde beschreibt van Beneden von *Ascaris* als „*corpuscules réfringents*“, enthält sich aber sonst einer Äusserung über ihre chemische Beschaffenheit.

Durch H. Marcus werden wir bei *Ascaris canis* über ähnliche Gebilde unterrichtet, die er für Glykogen anspricht und durch Jodreaktion nachweist: „In der Rhachis fand ich kein Glykogen; in der Ovocyte dagegen reichliche, mahagonibraune Kugeln in unregelmässiger Verteilung. Der Kern blieb stets, wie auch Barfurth betont, glykogenfrei. Die Glykogenaufspeicherung hat ihr Maximum erreicht, wenn die Ovocyte sich von der Rhachis lostrennt . . . Jetzt soll die Zelle auch die grösste Energie leisten, denn die Befruchtung, die Reifeteilungen und das Schalenbilden stehen ihr bevor.“

Bei *Strongylus filaria* schliesslich äussert sich Struckmann folgendermassen: „Bemerkenswert an ihnen (Geschlechtszellen) ist ausser der Dotterbildung das Auftreten von kleinen und grösseren Eiweisstropfen, die mit der Grössenzunahme der Oogonien heranwachsen und die auch bei anderen Nematoden beschrieben werden (Ziegler, Schneider). Beide Bestandteile, Dotter wie Eiweisstropfen, scheinen den Oogonien auf dem Wege der Rhachis zugeführt zu werden, doch konnte ich ihren Entstehungsort nicht feststellen.“ An einer späteren Stelle sagt Struckmann: „Ein anderer Vorgang, der sich in der Reifeperiode vollzieht und der schon von anderen Autoren beobachtet wurde, betrifft die oben erwähnten Eiweisstropfen. Dieselben lagen bisher im Innern des Eies in der Nähe des Keimbläschens. Sie wandern jetzt aber zur Peripherie und indem sie miteinander verschmelzen, nimmt ihre Zahl immer mehr ab. So gelangen sie an die Oberfläche, wo sie ausfliessen und die innerhalb der Eihaut gelegene, das Ei einhüllende Flüssigkeit bilden.“

Alle Autoren stimmen also darin überein, dass es sich bei diesen Körnchen um Nährstoffansammlungen handelt, die mit der Schalenbildung des befruchteten Eies verschwinden und somit

höchstwahrscheinlich bei dem Aufbau der Schale Verwendung finden. Ich schliesse mich dieser Auffassung um so fester an, als ich schon vor Kenntnis der Analogiefälle zu derselben Überzeugung gekommen war (vgl. Textfig. D und E, S. 241, F und G, S. 244 und H, S. 245).

Was nun die chemische Seite der fraglichen Körperchen anbelangt, so halte ich die Schneidersche Anschauung für falsch. Denn da Lecithin bekanntlich in Alkohol löslich ist, so müsste sich an Schnittpräparaten, die doch reichlich mit allen Alkoholstufen in Berührung kommen, auch keine Spur von diesen Körnchen nachweisen lassen.

Auch der Marcusschen Vermutung kann ich nicht beistimmen. Ich habe sowohl an frischem wie an Alkohol-Material die charakteristischen Glykogenproben vollzogen, aber jedesmal mit negativem Erfolg, so dass wenigstens bei *Sclerostomum* von Glykogen nicht die Rede sein kann.

Struckmann, dem die Arbeit Marcus' wohl unbekannt war, hat mit der Bezeichnung „Eiweisskugeln“ ein sehr vorsichtiges Urteil gefällt, gegen das sich nichts einwenden lässt, denn bei unserer noch so mangelhaften Kenntnis über die Zusammensetzung mikroskopischer Körper können wir heute noch keinen besseren Schluss ziehen.

c) Die Reifezone.

Ich komme jetzt auf die weiteren Veränderungserscheinungen der chromatischen Substanz zurück und damit zugleich auf die wichtigste Entwicklungsphase, die Teilzone oder die Bildung der Richtungskörper.

Wir hatten die Betrachtung des Kerns an der Stelle abgebrochen, wo die Eizelle losgelöst von der Rhachis als Oocyte in den Ovidukt und somit in die Reifezone eintritt. Ich folge dem Beispiele van Benedens, indem ich zwei Perioden unterscheide. Die erste Periode reicht bis zum Eindringen des Spermiums, die zweite von hier bis zur Vereinigung der väterlichen und mütterlichen Chromatinmassen.

Van Beneden charakterisiert die erste Periode mit den Worten: „Au moment où il se détache du rhachis ovarien l'oeuf n'est pas encore apte à recevoir le zoosperme“. Und in der Tat sehen wir bis zur Aufnahme des Spermas noch erhebliche Veränderungen an dem weiblichen Kern oder Keimbläschen vor sich gehen.

1. Die erste Periode der Reifung.

Der kompakte, ovoide Chromatinnukleolus wird kugelig, dabei etwas kleiner und nimmt ein mehr spongiöses Aussehen an, zugleich erscheint im Karyoplasma wieder ein äusserst feines Netz aus achromatischer Substanz (Textfig. D). In demselben Maße wie dieses Netz an Affinität für Farbstoffe gewinnt, wird der Chromatinnukleolus kleiner und blasser und es gelingt auf diesem Stadium keineswegs selten, deren zwei im achromatischen Kerngerüst festzustellen (Textfig. E).

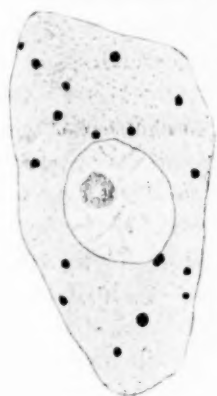


Fig. D.

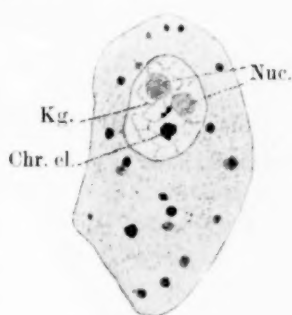


Fig. E.

Chr. el. = Chromatinelemente.

Kg. = Kerngerüst.

Nuc. = Nucleolus.

Bei nach der Gramschen Methode gefärbtem Material erwies sich das Netz aus äusserst feinen Fibrillen zusammengesetzt, auf denen zahllose, nur bei den stärksten Vergrösserungen erkennbare Körnchen lagerten, welche die eigentlich färbbare Substanz des Netzes darstellten. Zerstreut im Netz fand ich in diesem Stadium auch grössere Chromatinkörnchen, von denen meist sogar zwei dicht aneinander lagen. Es waren die ersten Anlagen der sich jetzt neu bildenden Chromosomen (Taf. IX, Fig. 58).

In diesem Stadium gelangen die Eier in den Uterus, stossen hier auf die schon oben geschilderten Massen reifer Spermatozoen und werden befruchtet.

Bevor ich jedoch zur zweiten Periode übergehe, muss ich noch einiger gestaltlicher Veränderungen am Eispasma Erwähnung tun. Es sei hier zuerst die Schilderung Pöppels wiedergegeben: „Allmählich von der Rhachis sich loslösend, gelangen die Eier in

den Ovidukt, in dem sie infolge ihres gegenseitigen Druckes die verschiedenste Gestalt annehmen und durch die vielen in ihrem Innern auftretenden Dotterkörnchen schliesslich undurchsichtig werden. Weiter unten reihen sich dieselben geldrollenähnlich wie die roten Blutkörperchen der Wirbeltiere hintereinander, bis sie sich in der Schalendrüse, einem Abschnitte des Oviduktes, mit einer Schale umgeben." Es folgt hier erst noch die nähere Beschreibung des Oviduktes: „Das Epithel wird allmählich mächtiger, engt das Lumen ein, sendet zottenförmige Fortsätze in dasselbe vor, ordnet sich sogar wie bei anderen Nematoden zu einer Doppelschicht und sondert alsdann das zur Eischale benutzte Sekret ab. Erstere gelangt erst im Uterus zu ihrer definitiven Ausbildung, nachdem die Eier einen sackartig erweiterten, mit langen Epithelzellen ausgekleideten Abschnitt der Geschlechtsröhre passiert haben, das Receptaculum seminis, das stets Samenelemente in grosser Zahl enthält und die Befruchtung vermittelt, die bei vollkommener Ausbildung der Schale unmöglich wäre.“

Ist schon der Ausdruck „geldrollenähnlich“ recht gewagt, denn die Eier erscheinen hier gerade so breit wie lang, so erweckt die weitere Beschreibung völlig den Eindruck, als habe Pöppel niemals besagten Teil des Genitalschlauches vor Augen gehabt.

Obwohl die Aufklärung der epithelialen Verhältnisse des Genitalorgans meiner Arbeit ganz fern lag, richtete ich jetzt meine Aufmerksamkeit darauf, um die angebliche „Schalendrüse“ zu entdecken. Dass sich das Lumen des Oviduktes einengt, besteht vollkommen zu Recht; von den „zottenförmigen Fortsätzen, die in dasselbe hineingeschickt werden oder von einer Doppelschicht“, konnte ich im Ovidukt aber auch keine Andeutung vorfinden, wohl aber eine auffallende, fast wörtliche Übereinstimmung mit der Augstein'schen Arbeit über *Strongylus filaria*. Somit wird auch die Behauptung, dass im Ovidukt oder der Schalendrüse „Sekrete für die Schalenbildung abgesondert würden“, hinfällig.

Was nun die Bezeichnung des Receptaculum seminis anbelangt, so halte ich diesen Ausdruck bei *Sclerostomum* für unpassend. Freilich zeichnet sich die Stelle des Uterus, wo der Ovidukt einmündet, durch lange Epithelzellen aus, aber gerade eine Einschnürung gegen den folgenden Uterusteil, und sei sie

auch noch so leicht, die den Ausdruck „sackartige Erweiterung“ rechtfertigen könnte, wird vermisst. Besagter Abschnitt ist weit eher einer Handglocke ähnlich, wobei der Eileiter dem Glockenstiel, der Anfangsteil des Uterus dagegen der Glocke selbst gleichzusetzen wäre. Ich werde daher statt von einem *Receptaculum seminis* nur von einem „Anfangsteil des Uterus“ sprechen.

Der Schilderung Pöppels kann ich noch hinzufügen, dass die Eier in dem Augenblick, wo sie den engen Ovidukt verlassen und in den weiten Anfangsteil des Uterus eintreten, ovoide Gestalt annehmen und bald hernach im lebenden Zustand ein feines Häutchen aufweisen, welches das Ei umgibt, aber zwischen sich und dem Eiplasma einen mehr oder weniger weiten Spalt-raum lässt.

Diese Hülle, die, wie wir oben schon gehört haben, nicht dem Sekret einer Schalendrüse, sondern den Reservestoffen im Eiplasma, die jetzt verschwinden, ihren Ursprung verdankt, tritt also erst im Uterus hervor und zwar nach der Befruchtung. Da die Membran jedoch an konserviertem Material fast nie deutlich zu sehen war, sondern dem Eiplasma wieder dicht auflag und sich nur an wenigen Stellen durch Falten bemerkbar machte, habe ich in meinen Zeichnungen von der Darstellung derselben Abstand genommen, mit wenigen Ausnahmen, wo der Raum zwischen Eiplasma und Membran sehr gross war und letztere, mit Böhmers Hämatoxylin gefärbt, scharfe Konturen aufwies.

2. Die zweite Periode der Reifung.

Ich komme nun zur Besprechung der zweiten Reifeperiode. Aus den klumpigen Chromosomen differenzieren sich jetzt sehr schnell sechs deutliche, zierliche Tetraden, wie wir sie schon in den Prophasen zur ersten Reifeteilung der Spermioocyten kennen gelernt haben (Taf. IX, Fig. 59). Diese Tetraden zeigen bald das Bestreben, sich an einer Stelle des Keimbläschens zu versammeln, wodurch sie oft quer übereinander zu liegen kommen. Auf diesem Stadium ist noch ein Nukleolus durch die Gramsche Färbung darstellbar, wenn auch nur verschwommen und blass, während das Liningerüst besonders das Böhmersche Hämatoxylin sehr lebhaft aufnimmt und dadurch den Nukleolus verdeckt (Textfig. F).

Haben sich die Tetraden an dem einen Pol des meist ovoïden Keimbläschens zusammengestellt, so reißt plötzlich die Membran

desselben und die Chromosomen schlüpfen hinaus in das Cytoplasma (Textfig. G), wo sie bald von einer kugligen, hellen Zone umgeben sind. Dieser Vorgang wird zwar selbst in neueren Arbeiten über Nematoden nicht beschrieben, geht jedoch aus manchen

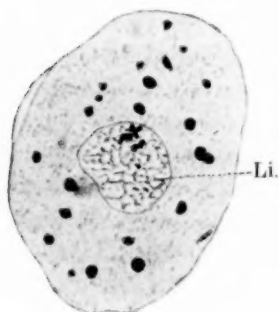


Fig. F.

Li. = Liniengerüst.

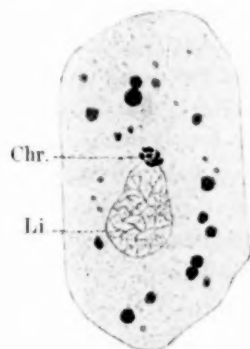


Fig. G.

Chr. = Chromosomen.

Li. = Liniengerüst.

Abbildungen mit ziemlicher Sicherheit hervor; ich möchte hier nur auf die Fig. 83, 84, 85 der Struckmannschen Arbeit sowie auf die Schilderung und Abbildung O. Meyers für *Strongylus tetracanthus* verweisen.

Was wird nun aber aus der achromatischen Substanz des Keimbläschens? In dem Augenblick, wo das gesamte Chromatin austrat, schrumpft sie zusammen, anfangs noch ovoide Gestalt beibehaltend, bald aber wird der Rest unter bedeutender Verkleinerung kuglig und liegt noch eine kurze Zeit im Ei sichtbar. Bevor jedoch das Ei noch eine stärkere Membran abscheidet, muss diese achromatische Substanz aus dem Ei austreten, denn man sieht neben den Eiern im Uterus zahlreiche Körper von vollkommen gleicher Grösse und Färbbarkeit liegen. Das Austreten dieser Körper selbst habe ich leider nie beobachten können und vermute daher, dass der Vorgang äusserst schnell vor sich geht.

Die Tetraden haben währenddessen in ihrem kugligen hellen Bläschen schon die typische Anordnung erfahren, die wir stets bei der Teilung beobachten können, nämlich so, dass ihre Längsachse in die der Spindelfasern fällt, die sich jetzt allmählich herausdifferenzieren. In dieser Form rücken sie nun nach irgend

einer Stelle der Eiperipherie (Textfig. H), so dass man eigentlich nicht von einer Richtungsspindel, sondern nur von einer „Richtungskugel“ ohne Centrosomen sprechen darf.

Meine Beobachtungen stehen somit in einem gewissen Gegensatz zu der Angabe O. Meyers für *Strongylus tetracanthus*, wonach die Spindelfasern an den Polen entweder in einer Spitze zusammenlaufen oder in einer breiten Platte endigen sollen. Dass ein Pol des Eies bei der Bildung der Richtungskörper bevorzugt wird, wie dies von H. E. Ziegler, v. Erlanger, Struckmann und Gulick beschrieben worden ist, konnte ich bei *Sclerostomum* nicht beobachten, ja, ich möchte sogar behaupten, mehr Richtungsspindeln in der Mitte der Breitseite des Eies gesehen zu haben, als an anderen Stellen. Struckmann sagt hierzu folgendes:

„Was den Ort der Ausscheidung der Richtungskörper anbelangt, so ist dieser im allgemeinen verschieden, je nachdem man es mit jungen oder alten Würmern zu tun hat. Bei jungen Tieren ist der Ovidukt, wie schon oben erwähnt wurde, so eng, dass die Eier nur dadurch, dass sie eine langgestreckte Gestalt annehmen, hindurchgleiten können. Da sie schon vorher Eiform angenommen hatten, so werden sie naturgemäss mit einem Pol voran in den Eileiter eintreten und dieser Pol bietet dann den hier vorhandenen Spermatozoen die nächste und beste Gelegenheit, sich der Eioberfläche anzulegen, so dass der später sich entwickelnde männliche Vorkern in der Nähe eines Pols gelegen ist. Bei diesen Eiern findet die Richtungskörperbildung meist an dem entgegengesetzten Pol statt, worauf der entstehende weibliche Vorkern dem in der Entwicklung voranschreitenden männlichen ungefähr gegenüber liegt. Diese Beobachtung stimmt überein mit den Untersuchungen von R. v. Erlanger, der dieselbe Tatsache für *Rhabditis dolichuris* und von H. E. Ziegler, der sie für *Diplogaster longicauda* feststellte. Es scheint sogar, dass die Spindel, falls sie während ihrer tangentialen Lage noch in der Mitte der Ei-

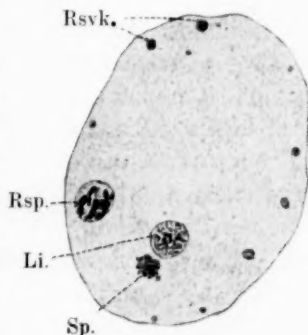


Fig. H.

Rsvk. = Reservekörper.

Rsp. = Richtungsspindel.

Li. = Liniengerüst.

Sp. = Spermium.

peripherie gelegen war, beim Übergang in die radiäre Lage gleichzeitig eine Bewegung nach dem Pol hin macht“.

Ich will diese Beobachtung nicht anfechten, sondern möchte nur den Unterschied daraus erklären, dass bei *Sclerostomum* eine Prädestination eines Poles zur Befruchtung schon aus dem Grunde nicht bestehen kann, weil ja hier die Befruchtung im Uterus vor sich geht, in welchem die Eier in jeglicher Lage mit dem Sperma in Berührung kommen können.

Die Chromosomen, die anfangs mit ihrer Längsachse parallel der Eimembran lagen (Taf. IX, Fig. 60), machen jetzt eine Drehung um 90° , so dass der eine Pol der Kugel dicht unter die Hülle zu liegen kommt (Taf. IX, Fig. 61). Auf diesem Stadium sind die Tetraden bei weitem nicht mehr so deutlich zu erkennen, doch fand ich bei einem *Sclerostomum equinum* solche, die alle übrigen an Zierlichkeit und Länge übertrafen (Fig. 62).

Häufig beobachtet man, dass von den sechs Tetraden ein oder zwei hinter der Grösse der übrigen zurückbleiben (Taf. IX, Fig. 63). Aber gerade diese Variabilität an Eiern ein und desselben Weibchens zeigt nach meiner Meinung zur Genüge, dass man bei der Längenbeurteilung chromatischer Elemente nur mit der grössten Vorsicht zu Werke gehen und ihren Grössendifferenzen nur sehr beschränktes Gewicht beimessen darf. Selbst das heterotypische Verhalten eines Chromosoms ist nicht unbedingt für die Existenz eines Heterochromosoms anzusprechen, denn ich konnte das Zurückbleiben eines Chromosoms in der Anaphase auch bei der Richtungskörperbildung in vereinzelt Fällen beobachten (Taf. IX, Fig. 64).

Sobald die Chromosomen aus der ziemlich langwährenden Metaphase in die Anaphase eintreten, macht sich ihre Zusammensetzung aus vier Teilstücken wieder stärker bemerkbar; denn noch während der Wanderung nach den Polen spalten sich die Teilstücke jeder Dyade wie die Schenkel eines Winkels aneinander, dessen Scheitelpunkt das nach den Spindelpolen zu gelegene Ende der Chromosomen ist. Es geht dies nicht allein aus Fig. 65, sondern auch aus den zwei Polansichten der Fig. 66 und 67, Taf. IX, hervor. Die Polansicht 67 stellt ein etwas späteres Stadium dar, indem hier die Dyaden schon fast einen gestreckten Winkel bilden, wenn ich obigen Vergleich weiter anwenden darf.

Es ist dies also der Vorgang, den ich, gestützt auf andere Beobachtungen, schon bei der ersten Reifeteilung der männlichen Geschlechtszellen als sicher vorkommend beschrieben habe.

In der Anaphase hat die kuglige Teilungsfigur mehr eine tonnenförmige Gestalt angenommen und zwischen den Teilstücken der Tetrade sieht man noch feine Spindelfasern verlaufen, wie dies ja mehrfach beschrieben worden ist (Taf. IX, Fig. 68).

Der der Eimembran zu gelegene Teil ist derselben jetzt so nahe gerückt, dass er sie vor sich herschiebt und eine kleine buckelartige Erhebung dabei bildet. In diesem Augenblick tritt zwischen den beiden Dyadengruppen eine äusserst zarte, kaum sichtbare Membran auf und die Bildung des ersten Richtungskörpers ist vollzogen.

Unmittelbar an die Ausstossung des ersten Richtungskörpers schliesst sich die des zweiten an. Ja, der Vorgang scheint sogar so schnell zu verlaufen, dass es zu Rotationserscheinungen des Cytoplasmas, wie sie durch van Beneden bei *Ascaris megalocephala* und durch Struckmann bei *Strongylus filaria* bekannt geworden sind, nicht mehr kommt. Vielmehr konnte ich mit wenigen Ausnahmen bei allen Eiern, welche die beiden Richtungskörper gebildet hatten, diese ziemlich dicht nebeneinander und mit kaum sichtbaren Plasmamengen versehen, beobachten.

Der Verlauf der zweiten Richtungskörperbildung ist analog dem der ersten. Die Chromosomen erscheinen um ein Geringes dünner und zugleich kürzer, eine wahrscheinlich Hand in Hand gehende Metamorphose. Jede der sechs Dyaden weist wieder den hier bei Sclerostomum so überaus typischen Querspalt auf; die Anordnung in der Spindel ist die gleiche, wie wir sie schon oben kennen gelernt haben (Taf. IX, Fig. 69). In der Anaphase vermessen wir selbstverständlich die winklige Aufspaltung, denn die Tetraden sind ja jetzt schon in ihre vier Stücke aufgeteilt, und die Gestalt der Chromosomen ist daher im zweiten Richtungskörper auch nur punktförmig oder genauer gesagt schwach spindelförmig, wie dies aus Fig. 69 hervorgeht. Verursachte die Bildung des ersten Richtungskörpers eine Ausbuchtung der Eimembran, so wird für den zweiten Richtungskörper durch das entgegengesetzte Prinzip, nämlich durch Einbuchtung des Eiplasmas, Platz geschaffen (Taf. IX, Fig. 70). Diese Figur ist noch aus einem anderen Punkte sehr interessant, denn man sieht hier, dass die völlig

zwecklos erscheinende, aber theoretisch verlangte Teilung des ersten Richtungskörpers vonstatten gegangen ist und dass wir in dem ehemaligen ersten Richtungskörper jetzt tatsächlich zwölf Chromosomen zählen können, die in Gestalt denen des zweiten Richtungskörpers vollkommen gleichen.

Ist die zweite Reifeteilung vollzogen, so umgibt sich die im Plasma zurückgebliebene Chromosomengruppe sehr bald mit einer Membran (Fig. 71). Dabei verschmilzt sie anfangs zu einem grösseren Klumpen, der aber bald in zahlreiche Körnchen aufgelöst wird. Diese verbreiten sich auf dem gleichzeitig wieder erscheinenden achromatischen Gerüst und lassen schliesslich einige grösser bleibende Körper unterscheiden, die sich ihrerseits aus zwei, seltener auch drei Brocken zusammensetzen (Fig. 72 und 74). Da nun gegen sechs derartige Chromatinansammlungen vorhanden sind, die entfernt an klumpige Chromosomen mit einer Querfurche erinnern, so lässt sich die Vermutung, dass es sich hier um die bei der Richtungkörperbildung zurückgebliebenen sechs Chromosomenteilstücke oder um die neuentstandenen Chromosomen des weiblichen Vorkernes handelt, nicht von der Hand weisen. Aus dem weiteren Entwicklungsverlauf werden wir jedoch ersehen, dass sich diese Behauptung nicht aufrecht erhalten lässt oder nur, wenn wir sie dahin einschränken, dass die Chromosomen des weiblichen Vorkernes nicht direkt aus jenen Chromatinklumpen entstehen.

Vorerst muss ich jedoch noch einmal einige Stadien zurückgreifen, um die Frage nach dem Verbleib des Spermakernes zu beantworten. Wir verliessen ihn in dem Augenblick, wo er ins Ei eingedrungen war und fast während der ganzen zweiten Reifeperiode des Eies ist an ihm keine merkliche Veränderung zu beobachten. Meist bleibt er in der Nähe der Eimembran liegen und zeigt bei nach Gram gefärbtem Material stets das stark gefärbte Chromatinstäbchen in einem helleren Hof, der gegen das Eiplasma nicht scharf begrenzt erscheint.

Die ersten Veränderungen am Spermatozoon, die mit der Bildung des zweiten Richtungskörpers beginnen, bestehen darin, dass der gestreckte Kern seitliche Protuberanzen aufweist und damit für immer seine stabförmige Gestalt verliert (Fig. 71). Zugleich wird die Abgrenzung des „hellen Hofes“ gegen das Cytoplasma schärfer, wir können wieder von einer Kernmembran

und somit auch von einem männlichen Vorkern sprechen. Der anfangs noch kompakte Chromatinkörper schwillt nun samt der ihn umgebenden Membran etwa auf die doppelte Grösse an und zugleich löst er sich in mehrere grössere und kleinere punktförmige Körper auf, die in einem achromatischen Kerngerüst ruhen (Taf. IX, Fig. 72); somit hat er dasjenige Stadium erreicht, das wir soeben vom weiblichen Vorkern kennen gelernt haben.

Da der weitere Entwicklungsverlauf in beiden Kernen der gleiche ist, so kann ich von nun ab die Besprechung gemeinsam führen.

Beide Vorkerne haben währenddessen ihre Stellung nur wenig oder gar nicht verändert, so dass man häufig an den entgegengesetzten Eipolen völlig gleiche Kerne beobachten kann.

Es kommen aber auch abweichende Stellungen vor, indem z. B. der Spermakern dicht neben dem Richtungskörper und somit neben dem späteren weiblichen Vorkern liegt oder auch in seiner Entwicklung hinter dem letzteren zurückbleibt, wie dies Taf. IX und X, Fig. 73—75, zeigt.

Während ihrer weiteren Umwandlung rücken nun beide Kerne gegen das Eizentrum vor und es ist dann auch aus ihrer Lagerung zu den Richtungskörpern bei Gramscher Färbung nicht mehr zu erraten, welcher von beiden der männliche oder weibliche Vorkern ist; denn das so häufig erwähnte Erkennungszeichen des männlichen Vorkernes, das Centrosom, habe ich bei besagter Färbung auf diesem Stadium niemals nachweisen können. Besser glückte dies mit Böhmers Hämatoxylin; das jüngste Stadium, das mir mit deutlicher Centrosomenstrahlung häufig zu Gesicht kam, ist in Taf. X, Fig. 76 wiedergegeben.

Um so erstaunlicher war daher für mich eine Angabe in der 1895 erschienenen, schon mehrfach herangezogenen Arbeit O. Meyers, die ich hier etwas eingehender besprechen will.

Zur Erforschung der Centrosomenverhältnisse beim männlichen und weiblichen Vorkern untersuchte O. Meyer *Strongylus tetracanthus* und hebt hervor, dass er bei diesem Objekt das Centrosom und seine Strahlung am männlichen Kern bald nach seinem Eindringen in das Ei besonders gut beobachten konnte.

Unter *Strongylus tetracanthus* verstand O. Meyer, dem Stande der damaligen Forschung entsprechend, alle kleineren Formen der Sclerostomiden und somit hatte er unter seinem

Material wahrscheinlich auch *Sclerostomum vulgare* und kleinere Individuen von *Sclerostomum edentatum*, d. h. sicherlich teilweise die gleichen Spezies, die ich untersucht habe.

Unsere so abweichenden Beobachtungen lassen sich nach meiner Meinung nur auf die Verschiedenheit der Fixationsflüssigkeiten zurückführen oder auf die der Färbmethoden, die O. Meyer leider nicht angibt. Meyer wählte zur Fixierung die Perenyische Flüssigkeit, die, wie er selbst angibt, „das Chromatin allerdings nicht besonders gut konserviert und vor allen Dingen dessen Färbbarkeit zu beeinträchtigen scheint“ und die gerade aus diesem Grunde für mich nicht in Betracht kam, da ich ja auf jene Faktoren mein Hauptaugenmerk richtete.

Da es immerhin möglich ist, dass sich ein Centrosom am Spermatozoon bei anderer Färbung und Konservierung früher nachweisen lässt, so erscheint es mir zweckmässig, zuerst in kurzen Worten die Beobachtungen O. Meyers wiederzugeben, da ich sowieso auf einige Punkte noch näher eingehen muss.

Das früheste Stadium, in welchem der ellipsoide Spermakern ein kleines, polständiges Centrosom mit zarter Strahlung aufweist, fällt nach O. Meyer mit der Bildung des ersten Richtungskörpers zusammen. Der „achromatische Hof“ wird mit der Bildung des zweiten Richtungskörpers vom Eiplasma resorbiert und gleichzeitig treten Centrosom und Strahlung deutlicher hervor. Ist der zweite Richtungskörper ausgestossen, so teilt sich das Centrosom, zeigt jedoch an der Durchschnürungsstelle noch eine starke Brücke achromatischer Fasern. Sind beide Teilstücke schliesslich getrennt und das eine von ihnen an den entgegengesetzten Spermapol gewandert, so bildet der bisher kompakte Spermakern „eine Vakuole“ um sich, ist aber auch jetzt noch an den Strahlensystemen kenntlich, die dem weiblichen Kern abgehen. „Das Verhalten der beiden Centrosomen bei der Annäherung der Kerne stellt sich in der Mehrzahl der Fälle so dar, dass immer das eine zunächst dem Eikern zustrebt. Das „führende“ legt sich an den Eikern, es kommt zum vollen Kontakt der beiden Kerne und gleichzeitig vollzieht sich eine Drehung derart, dass schliesslich die Verbindungslinie der Centrosomen in die Längsachse des Eies eingestellt ist, während die der Kerne senkrecht darauf steht... worauf dann sofort die Auflösung ohne vorhergehende Verschmelzung der Kernvakuolen folgt“.

O. Meyer schliesst sich also der zuerst von van Beneden aufgestellten Behauptung an, dass: „une conjugaison des deux pronucléus en un noyau embryonnaire morphologiquement unique ne se produit pas“, der die ältere, konträre Anschauung Hertwigs gegenübersteht.

Betreffs des zeitlichen Ineinandergreifens der Vorkern- und Richtungskörperbildung sowie der gegenseitigen Vorkernstellung und Centrosomenlagerung stimmen demnach unsere Beobachtungen, wie man aus den beigegebenen Taf. IX. und Taf. X, Fig. 71, 72 und Fig. 76 und 77 erschen kann, im grossen und ganzen überein, abgesehen von dem ersten Auftreten der Chromatinveränderungen, die O. Meyer selbstverständlich entgehen mussten. Was jedoch die Bildung der ersten Furchungsspindel anbelangt, bin ich zu einem stark abweichenden Resultat gekommen; ich glaube entschieden, dass O. Meyer, gestützt auf die damals noch neuen, umfangreichen Arbeiten von van Beneden, Carnoy und Th. Boveri, die bei Sclerostomum vorliegenden Verhältnisse zu einseitig betrachtet hat.

Bekanntlich hat die Auffassung van Benedens eine grosse Anhängerschaft gefunden und Th. Boveri äusserte sich 1888 sogar dahin, dass diese Meinung, da sie auch in anderen Tierklassen Geltung hat, „wohl den Wert eines allgemeinen Gesetzes beanspruchen darf“. An einer späteren Stelle seiner Arbeit schränkt er diesen Satz freilich wie folgt ein: „Es scheint, dass verschiedene Weibchen hinsichtlich der Vereinigungsart der Geschlechtskerne ihrer Eier sich verschieden verhalten, dass bei manchen fast ausschliesslich eine Vereinigung der Kerne erst in der Spindel, bei anderen schon im Zustand des Bläschens mit chromatischem Gerüst vorkommt“.

Alles in allem sind die fraglichen Vorgänge bei unserem Objekt sehr schwer zu verfolgen und können leicht zu einer Täuschung Anlass geben, besonders wenn die Darstellung des Chromatins wie bei O. Meyer zu wünschen übrig lässt.

Da nämlich die Eier, wie ich schon andeutete, periodisch zu mehreren hintereinander in den Uterus eintreten, so ist es klar, dass sich alle, sagen wir einer Periode angehörigen Eier, ungefähr auf dem gleichen Stadium befinden werden. Zugleich folgt aber auch hieraus, dass zwischen der ersten und der nun folgenden „Periode“ ein Sprung, eine Lücke in der Entwicklungsreihe vor-

handen sein muss. Man findet daher im Anfangsteil des Uterus — wo diese Verhältnisse am deutlichsten hervortreten — Eier, welche die beiden Vorkerne nebeneinander aufweisen und dicht darauf solche, die schon die erste Furchungsteilung durchgemacht haben oder wenigstens die Furchungsspindel zeigen.

Steht daher nicht eine grosse Anzahl verschiedener Uteri zur Verfügung, so ist es leicht möglich, dass das Zwischenstadium, der „Furchungskern“, vermisst wird und man somit zu dem falschen Schluss kommt, dass die karyokinetische Figur mit ihren Chromosomen unmittelbar aus den getrennten Vorkernen hervorgeht.

Wie steht es nun aber überhaupt mit der Chromosomenausbildung für die erste Furchungsmitose?

Haben die Vorkerne das eingangs beschriebene Stadium mit den wenigen grossen und den zahlreichen kleinen Chromatinbrocken erreicht, so berühren sie sich meist, ihre Membran verschwindet an der Kontaktstelle und es wird daher vorübergehend ein Kern in Form eines Biskuits hergestellt (Taf. X, Fig. 79), der dann in eine grosse, ovale, schliesslich kuglige Gestalt übergeht.

In diesem Kern, der entsprechend seines Ursprunges ein grösseres Chromatinquantum enthält, bilden sich aus den zahlreichen kleinen Körnchen anfangs unregelmässige, zackige Chromatinfäden, die sich allmählich in zierliche, schleifenförmige Chromosomen umwandeln, während die dicken Chromatinklumpen schliesslich verschwunden sind (Fig. 80).

Dieser Umbildungsprozess kann jedoch von diesem als typisch zu bezeichnenden Modus beträchtlich abweichen. Liegt der Spermakern, wie oben bemerkt, in der Nähe des Eikernes, so schreitet letzterer gewöhnlich in der Entwicklung voran und es findet eine Vereinigung der beiden Vorkerne statt, wenn der männliche noch bei weitem hinter der Grösse des weiblichen zurücksteht (Taf. X, Fig. 81).

Andererseits scheint die Vereinigung der Kerne auch verzögert werden zu können und entstehen dann schon in den Vorkernen deutlich geschlängelte Chromosomen (Fig. 82). Ich fand derartige Verhältnisse meist bei *Sclerostomum edentatum* und ich muss gestehen, dass ich sie anfangs für einen Beweis der Richtigkeit der von Benedenschen Auffassung hielt, da ich überdies erste Furchungsspindeln fand (Fig. 86), in denen die Chromosomen in

zwei Gruppen getrennt voneinander lagen und mir somit ihren verschiedenen Ursprung anzudeuten schienen. Später fand ich jedoch in dem gleichen Objekt Zwischenstadien (Fig. 83), die sowohl die halbverschmolzenen Vorkerne, als auch die schon angelegten geschlängelten Chromosomen zeigten, wodurch die beiden Kriterien, die für die Meinung von Benedens sprachen, wieder bedeutend an Beweiskraft verloren.

Ich komme daher im Gegensatz zu O. Meyer zu dem Schluss, dass bei den Sclerostomiden fast stets ein Furchungskern ausgebildet wird, während der von Benedensche Bildungsmodus nur für wenige Fälle und zwar bei *Sclerostomum edentatum* wahrscheinlich gemacht wird.

Da die erste Furchungsspindel das Endresultat der Geschlechtszellenvereinigung darstellt, so möchte ich, bevor ich auf den feineren Bau derselben eingehe, vorerst noch einiger Befruchtungsanomalien Erwähnung tun, von denen ich schon zu Beginn meiner Arbeit andeutungsweise sprach.

Haben die lebenden Parasiten starke Temperaturniedrigung erlitten, so findet man im Uterus kein einziges normales Befruchtungsstadium. Einerseits sucht man nach Richtungskörpern vergeblich, andererseits lassen sich in jedem Ei drei bis vier blasige Kerne auffinden, deren Ursprung auf eine Polyspermie zurückzuführen ist (Taf. X, Fig. 84).

Diese Anomalie liesse sich nach meiner Meinung in befriedigender Weise erklären, wenn wir annehmen, dass nur die vom Eiplasma abgehobene Hülle und sei sie anfangs auch noch so fein, eine undurchdringliche Wand für die Spermatozoen bilde, nicht aber die mit dem Eiplasma in Kontakt stehende.

Da nun bei Abkühlung des lebenden Materials eine Schrumpfung der gesamten Teile eintritt, so liesse sich wohl denken, dass eine noch zarte, gerade abgelöste Eimembran sekundär mit dem Eiplasma in Verbindung tritt und somit eine Polyspermie ermöglicht wird.

Dass es trotz Polyspermie noch zur Spindelbildung kommen kann, zeigen die Fig. 85a, b, c, d, Taf. X, die einer Schnittserie entlehnt sind. Es sind hier zwei vollständige Spindeln ausgebildet und ausserdem liegen noch mehrere kernähnliche Körper im Eiplasma, die teils zu Grunde gegangenen Spermakernen, teils dem zur Kugel gewordenen Liningerüst des Keimbläschens ent-

sprechen dürften. Welche Chromatinbestandteile bei der Bildung der zweiten Spindel zur Verwendung gekommen sind, lässt sich selbstverständlich nicht angeben, hervorheben möchte ich aber noch, dass von Richtungskörpern nichts zu sehen war, somit also möglicherweise weibliche Chromatinbestandteile auch an der zweiten Spindel beteiligt sein könnten.

In den normalen Furchungsspindeln lassen sich von nun ab auch mit Gentianaviolett und Jodjodkalium punktförmige Centriolen, wenn auch ohne Strahlung, kenntlich machen, letztere wird sogar merkwürdigerweise durch zahlreiche um den Hauptkern angeordnete und ebenso stark färbbare Körnchen ersetzt (Taf. X, Fig. 86—88). Ich halte diese Beobachtung, dass an der Plasmastrahlung grosser Centrosomen auch noch dem Zentralkörper ähnliche Gebilde beteiligt sind, für um so interessanter, als sie noch nicht beschrieben, was sicherlich auf das Übergehen der Gramschen Färbmethode zurückzuführen ist.

Die Äquatorialplatte der Furchungsspindel wird aus den kurzen, schwach winklig geknickten Chromosomen gebildet (Taf. X, Fig. 87), von denen wir entsprechend unserer obigen Angabe bei Polansicht elf oder zwölf finden müssten, je nachdem ein männliches oder weibliches Individuum aus dem befruchteten Ei hervorgehen soll. Ich habe absichtlich in den letzten Seiten von einer Präzisierung der Chromosomenzahl Abstand genommen, da sie bei einer solchen Zahl überdies gebogener Chromosomen an Schnittpräparaten zur Unmöglichkeit wird. Meine Versuche, die fraglichen Stadien an Totalpräparaten zu studieren, scheiterten jedoch trotz mannigfacher Abänderung der Färbmethoden an der starken Tinktionsfähigkeit des Eiplasmas, wodurch die Chromosomen stets verdeckt wurden.

In den Anaphasen rücken die beiden Tochterplatten als einheitliches Ganzes gegen die Pole (Taf. X, Fig. 88), umgeben sich noch während der Durchschnürung des Eiplasmas mit einer Kernmembran und lösen sich in zahlreiche Chromatinbrocken auf (Taf. X, Fig. 89), um bei erneuter Teilung abermals die bekannten Entwicklungsstufen zu durchlaufen.

Was nun die Richtung der Teilungsebenen anbelangt, so können hierbei alle möglichen Variationen vorkommen. Meistens fällt freilich die Spindelachse, entsprechend der zweiten Hertwigschen Regel, die Richtung der Kernspindel betreffend, in die

Hauptachse des ellipsoiden Eies (Taf. X, Fig. 78). Sie kann sich aber auch in die Nebenachse desselben einstellen (Fig. 88) oder mit der Hauptachse einen Winkel von 45° bilden (Fig. 86), d. h. ein Zwischenstadium zu den beiden erstgenannten Fällen.

Da die gleichen Verhältnisse auch in den einzelnen Blastomeren obwalten, so lassen sich hieraus die beigegebenen Fig. 90—92 mit Leichtigkeit erklären.

Ist das Ei durch weitere Teilung bis zum Morulastadium fortgeschritten, so finden wir es im vaginalen Ende des Uterus oder wohl gar in der Vagina. Hierbei gehen die Eier von *Sclerostomum edentatum* in ihrer Entwicklung weiter als diejenigen von *Sclerostomum equinum*; so stammt Fig. 93 aus der Vagina der letzteren Spezies, während Fig. 94 ein Ei aus dem Uterus von *Sclerostomum edentatum* vorstellt.

In diesem Entwicklungsstadium verlassen die Eier die weiblichen Geschlechtsorgane und gelangen mit den Exkrementen des Pferdes ins Freie, um hier zu Rhabditisformen zu werden und dann z. B. mit dem Weidefutter von einem anderen Pferde wieder aufgenommen zu werden, wie wir es aus den eingangs erwähnten Arbeiten erfahren haben.

Zusammenfassung.

Stellen wir am Schluss unserer Untersuchung die gefundenen Resultate zusammen, so wäre als charakteristisch für die Sclerostomiden hervorzuheben:

1. Die starke Rhachisbildung beim Männchen, die mit ihren Resten bis tief in die Reifezone reicht.
2. Die bedeutend schwächere Rhachis beim Weibchen, die schon vor Beginn der Reifezone völlig verschwindet.
3. Elf Chromosomen in den Spermio gonienkernen.
4. Zwölf Chromosomen in den Oogonienkernen.
5. Fünf Tetraden und ein Monosom in den Spermio cyten, was zu einer ungleichen Teilung in der ersten oder zweiten Reifeteilung führt.
6. Sechs gleichwertige Tetraden bei der Richtungskörperbildung und zugleich die Ausstossung eines achromatischen Restkörpers des Keimbläschens.
7. Die Ausbildung einer langgestreckten Ejakulationsspermiform.

8. Die Rückbildung desselben im Uterus zum kugligen Befruchtungsspermium.
9. Die Bildung eines Furchungskernes, der aus den verschmelzenden Vorkernen hervorgeht und in vereinzelt Fällen die Bildung einer Furchungsspindel ohne vorherige Vereinigung der Vorkerne.
10. Die Eier verlassen im Morulastadium den mütterlichen Körper.
11. Die einzigartige männliche Rhachisbildung sowie die Spermatidenumbildung rechtfertigen die früher schon aus anderen Ursachen vorgenommene Abtrennung unserer Parasiten von den Strongyliden.

Literaturverzeichnis.

- Agassiz, Louis: Nomenclatoris zoologici index universalis, 1846.
- Auerbach, L.: Organologische Studien. Breslau 1874.
- Augstein, O.: Strong. filaria. Diss., Leipzig 1894.
- van Beneden: Recherches sur la Matur. de l'oeuf la Fécond. et la Divis. Cellulaire. Leipzig 1883.
- Derselbe: Recherches sur la Composition et la Signification de l'oeuf. Mém. cour. de l'Acad. roy. des Sc. de Belg. 1870.
- van Beneden et Julin: La Spermatogénèse chez l'Asc. megal. Bullet. de l'Acad. roy. de Belg. 1884.
- Bischoff: Über Ei- und Samenbildung und Befruchtung bei Asc. mystax. Zeitschr. f. wiss. Zool., 1855.
- Blainville: Dictionnaire des sciences naturelles, 1824—1828.
- Boveri, Th.: Über die Differenzierung der Zellkerne während der Furchung des Eies von Asc. megal. Anat. Anz., II. Jahrg. 1887.
- Derselbe: Zellstudien. Jenaische Zeitschr., H. I 1887, H. II 1888, H. III 1890.
- Derselbe: Über die Befruchtung der Eier von Asc. megal. Sitzungsber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. in München, 1887.
- Derselbe: Über den Anteil der Spermatozoen an der Teilung des Eies. Ebenda 1887.
- Derselbe: Über das Verhalten der Geschlechtschromosomen bei Hermaphroditismus. Verh. d. Phys.-Med. Ges. Würzburg, Bd. 41.
- Brandt, A.: Die Eifurchung bei Asc. nigrov. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 28.
- Brauer, A.: Zur Kenntnis der Spermatogenese von Asc. megal. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 42.
- Braun: Tierische Parasiten des Menschen. Würzburg 1903.
- Bremser: Icones Helminthum. Wien 1824.

- Bütschli: Beiträge zur Kenntnis freilebender Nematoden. Nova Acta Leop. Carol. 1873, Bd. 36.
- Derselbe: Studien über die ersten Entwicklungsvorgänge der Eizelle etc. Abh. d. Senckenb. naturf. Ges., Bd. X, 1876.
- Derselbe: Vorläufige Mitteilung über Untersuchungen betreffend die Entwicklungsvorgänge in befruchteten Eiern von Nematoden und Schnecken. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 25, 1875.
- Derselbe: Entwicklungsgeschichtliche Beiträge. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 29, 1877.
- Derselbe: Entwicklungsgeschichte des Cucullanus elegans. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 26.
- Carnoy: La cellule, recueil de cytologie et d'histologie générale. H. 1, 1886, H. 2, 1887.
- Claparède: Über Ei- und Samenbildung bei Nematoden. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 9, 1858.
- Cobb, N. A.: Beiträge zur Anatomie und Ontogenie der Nematoden. Jenaische Zeitschr., Bd. 23.
- Diesing, C.: Systema Helminthum. Wien 1850/51.
- Dujardin: Hist. nat. des Helminthes, 1845.
- Eberth: Die Nematoden. Leipzig 1863.
- Derselbe: Ringgestalt der Rhachis bei Strongylus striatus und commutatus. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. XI.
- Edwards, Ch. L.: The sex-chromosomes in Ascaris felis. Arch. f. Zellforschung, Bd. VII.
- v. Erlanger: Befruchtung und Teilung an Eiern kleiner Nematoden. Biol. Zentralbl., Vol. 17, 1897.
- Derselbe: Über die Befruchtung und Teilung des Ascariseies. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 52, 1898.
- Flemming: Zellsubstanz, Kern und Zellteilung. Leipzig 1882.
- Derselbe: Beiträge zur Kenntnis der Zelle und ihrer Lebenserscheinungen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 16, 1878.
- Derselbe: Fortsetzung Bd. 18, Fortsetzung Bd. 20, 1881.
- Frolowa, S.: Idiochromosom bei Ascaris megalocephala. Arch. f. Zellforschung, Bd. 9, 1912.
- Giles: On a new Sclerostome from the large intestine of mules. Repr. fr. the scientific mem. by med. offic. of the army of India. Part. VII, Calcutta 1892.
- Glaue: Zur Unterscheidung von Ascaris canis (mystax) und felis. Zool. Anz., Bd. 33.
- Gulick, Ad.: Über Geschlechtschromosomen bei einigen Nematoden. Arch. f. Zellforsch., Bd. 6.
- Gutherz: Zur Kenntnis der Heterochromosomen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 69, 1906.
- Derselbe: Über den gegenwärtigen Stand der Heterochromosomenforschung. 1911.
- Haase: Sclerostomum armatum in der Darmwand des Pferdes. Berliner Tierärztl. Wochenschr., 1901, S. 312—313.

- Häcker, V.: Die Vorstadien der Eireifung. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 45, 1885.
- Hertwig, O.: Beiträge zur Kenntnis der Bildung, Befruchtung und Teilung des tierischen Eies. 1. Abh. Morph. Jahrb., Bd. I, 1875; 2. Abh., Bd. III, 1877; 3. Abh., Bd. IV, 1878.
- Derselbe: Vergleich der Ei- und Samenbildung bei Nematoden. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 36.
- Derselbe: Handbuch der Entwicklungsgeschichte.
- Jelkmann: Über den feineren Bau von *Strongylus pulm. apri*. Diss. Basel 1895.
- Korschelt und Heider: Lehrbuch der vergleichenden Entwicklungsgeschichte wirbelloser Tiere. Allg. Teil, 1902.
- Krabbe: Untersuchungen über das Vorkommen von Eingeweidewürmern im Darmkanal des Pferdes. Deutsch. Zeitschr. f. Tiermed., Bd. VI, 1880.
- Kultschitzky: Die Befruchtungsvorgänge bei *Ascaris megalocephala*. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 31, 1887.
- Leuckart: Menschliche Parasiten, Bd. I, 1869, Bd. II, 1876.
- Derselbe: Neuere Beiträge zur Kenntnis des Baues in der Lebensgeschichte der Nematoden. Abh. d. Königl. Sächs. Ges. d. Wiss., Bd. XIII, 1887.
- Lieberkühn, V.: Beiträge zur Anatomie der Nematoden. Arch. f. Anat. u. Phys., 1855.
- Looss: Die Sclerostomiden der Pferde und Maulesel in Ägypten. Bact. Zentralbl., Bd. 27, S. 150—160 und S. 184—192.
- Markus, H.: Ei- und Samenreifung bei *Ascaris canis*. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 68.
- Derselbe: Über die Beweglichkeit der Ascarisspermien. Biol. Zentralbl., Bd. 26, 1906.
- Martin, O.: Beiträge zur Kenntnis der Verbreitung und Entwicklung von *Sclerostomum edentatum*. Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk., Bd. 37, 1910.
- Mayer, A.: Zur Kenntnis der Rhachis im Ovarium und Hoden der Nematoden. Zool. Anz., Bd. 30, 1906.
- Derselbe: Zur Kenntnis der Samenbildung bei *Ascaris megalocephala*. Zool. Jahrb., Bd. 25, 1908.
- Mehlis: Isis, 1831, S. 78—90. *Strongylus armatus* und *tetracanthus*.
- Meissner: Beobachtungen über das Eindringen der Samenelemente in den Dotter. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. V, 1854.
- Meyer, O.: Zelluläre Untersuchungen an Nematodeneiern. Jenenser Zeitschrift, Bd. 29.
- Montgomery, Th.: On morphol. difference of the chromos. of *Asc. meg.* Arch. f. Zellforsch., Bd. II, 1908.
- Mulsow, K.: Der Chromosomenzyklus bei *Ancyracanthus cystidicola*. Arch. f. Zellforsch., Bd. 9, 1912.
- Munk, H.: Über Ei- und Samenbildung und Befruchtung bei Nematoden. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 9, 1858.
- Nussbaum, M.: Über die Veränderung der Geschlechtsprodukte bis zur Eifurchung. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 23, 1884.

- Olt: Die Wanderungen des *Strongylus armatus*. Deutsch. tierärztl. Wochenschrift, 1900.
- Pöppel, E.: Untersuchungen über den Bau von *Strongylus armatus*. Diss., Leipzig 1897.
- Reichert, K. B.: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Samenkörper bei Nematoden. Müllers Arch. f. Anat. u. Phys., 1847.
- Rudolphi, Carolo, A.: Historia Entozoorum, 1808—1810.
- Derselbe: Entozoorum Synapsis. Berlin 1819.
- Scheben: Beiträge zur Kenntnis der Spermatozoen von *Ascaris megaloccephala*. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 79, 1905.
- Schleip, W.: Über das Verhalten des Chromatins bei *Angiostomum* (*Rhabdonema*) *nigrovenosum*. Arch. f. Zellforsch., Bd. 7, 1911.
- Schneider, A.: Monographie der Nematoden. Berlin 1866.
- Derselbe: Das Ei und seine Befruchtung. Breslau 1883.
- Spemann: Zur Entwicklung des *Strongylus paradoxus*. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat., Bd. 8, 1895.
- Stadelmann: Über den Bau von *Strongylus convolutus*. Arch. f. Naturkunde, 1892.
- Sticker, A.: Untersuchungen über den Bau und die Lebensgeschichte von *Sclerostomum armatum*. Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk., Bd. 27, 1901.
- Derselbe: Der Aufenthalt von *Sclerostomum armatum* in der Wand des Dickdarms. Deutsch. tierärztl. Wochenschr., 9. Jahrg., 1901.
- Derselbe: Die drei Arten des bewaffneten Palisadenwurmes, *ibid.*, S. 333—336.
- Ströse, A.: Über den feineren Bau von *Strongylus micrurus*. Rostock 1894.
- Strubell, A.: Heterodera Schachtii. Bibl. Zoologica v. Leuckart-Chun, 1888.
- Struckmann: Ei- und Samenbildung und Befruchtung von *Strongylus filaria*. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat., Bd. 22, 1905.
- Tretjakoff, D.: Die Bildung der Richtungskörperchen in den Eiern von *Ascaris megaloccephala*. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 65, 1905.
- Willach, P.: *Sclerostomum armatum* und *tetracanthum*. Zeitschr. f. wiss. u. prakt. Tierheilk., Bd. 17, 1891.
- Derselbe: *Ibid.*, S. 340, *Sclerostomum apiostomum*.
- Zacharias, O.: Neue Untersuchungen über die Kopulation der Geschlechtsprodukte und der Befruchtungsvorgänge bei *Ascaris megaloccephala*. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 30, 1887.
- Ziegler, H. E.: Untersuchungen über die ersten Entwicklungsvorgänge der Nematoden. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 60, 1895.
- Zörn: Tierische Parasiten, 1872.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel VIII—X.

Die Fig. 1—6 und 8—13 sowie Textfig. A—H wurden in halber Objekttschöhe, Fig. 77—100 in Objekttschöhe mit dem Zeichenapparat nach Oberhäuser und einer Himmelschen homogenen Öl-Immersion 2 mm bei einer Tubuslänge von 170 mm skizziert und dabei eine Vergrößerung von 1140 und 900 erreicht. (Fig. 1—6 und 8—13 sowie Textfigur B—H wurden später auf $\frac{3}{4}$ verkleinert.)

Die Fig. 7, 51, 76 wurden gleichfalls mit dem Zeichenapparat nach Oberhäuser angelegt, jedoch Fig. 7 und 51 in halber Objekttschöhe mit Himmelschem Objektiv 7 und Fig. 76 mit $\frac{1}{16}$ homogener Öl-Immersion von Leitz (als Zeichentisch diente der Standtisch des Mikroskops); die Vergrößerung betrug hierbei 500 und 1400. (Fig. 7 wurde auf $\frac{3}{4}$ verkleinert.)

Die übrigen Figuren wurden sämtlich in Objekttschöhe mit dem grossen Abbeschen Zeichenapparat angefertigt unter Benutzung einer $\frac{1}{6}$ homogenen Öl-Immersion von Leitz und einem Kompensationsokular 8 von Zeiss bei einer Tubuslänge von 160 mm. Die Vergrößerung beträgt 1650.

Tafel VIII.

Fig. 1, 4—7, 13—21, 30: Fixation Flemming, gefärbt mit Heidenhain-Eosin oder Safranin-Lichtgrün. Fig. 2: Fixation Zenker, gefärbt mit Böhmers Hämatoxylin. Fig. 3, 10, 22—29, 31—33: Fixation Bouin, gefärbt mit Böhmers Hämatoxylin oder Gram. Fig. 8, 9, 11, 12: Fixation Helly, gefärbt mit Böhmers Hämatoxylin.

- Fig. 1. Querschnitt durch die Keimzone der Hodenröhre; im Zentrum der Rhachisstamm mit seinen primären und sekundären Rhachislamellen. Im umgebenden Syncytium Spermiogonienkerne in verschiedenen Entwicklungsstadien.
- Fig. 2. Querschnitt durch das Ende der Keimzone. Die primären und sekundären Rhachislamellen sind von einem homogenen Plasma aufgefüllt. Neben Spermiogonienkernen peripher drei Zwischenkörper (Zwk.).
- Fig. 3. Querschnitt durch den oberen Teil der Wachstumszone. Die Rhachis ist stark geschwollen und lässt die primären Rhachislamellen nur noch undeutlich erkennen. Die Spermiogonienkerne sind oval geworden.
- Fig. 4. Querschnitt durch die Mitte der Wachstumszone. Der Rhachisstamm hat die primären Lamellen eingezogen und ist vollkommen abgerundet. Im Zentrum zeigt er einen dichten Ring, während das übrige Plasma radiäre Fasern aufweist. Von der Peripherie des Rhachisstammes lassen sich tertiäre usw. Verzweigungen bis zur Hodenperipherie zwischen den Spermiogonien nachweisen.
- Fig. 5. Querschnitt durch einen älteren Teil der Wachstumszone. Der zentrale Rhachisring ist schon aufgelöst, das übrige Plasma schon sehr locker mit vereinzelt gefärbten Körnchen, die besonders an der peripheren Randschicht des Rhachisstammes hervortreten. Die Spermiogonien deutlich keulenförmig.

- Fig. 6. Querschnitt durch das Ende der Wachstumszone. Der Rhachisstamm zeigt nur noch Spuren eines radiären faserigen Plasmas. Die Keulenform der Spermiogonien tritt schärfer hervor.
- Fig. 7. Längsschnitt durch den Beginn der Reifezone. Der Rhachisstamm zusammengedrückt und in Falten gelegt. Die jungen Spermiocyten etwas verkürzt.
- Fig. 8. Längsschnitt durch das blinde Ende einer Ovarialröhre mit Schneiderscher Terminalzelle (Sch. Termz.) mit Kern (K.) und bläschenförmigem Nukleolus (Nuk.). Zentral ein heller Rhachisstreifen mit vereinzelt kleineren Kernen.
- Fig. 9. Querschnitt kurz hinter dem blinden Ende der Ovarialröhre desselben Tieres wie Fig. 8. Stark entwickelter Rhachisteil ohne Abgrenzungsschicht gegen das Plasma des umgebenden Syncytiums.
- Fig. 10. Querschnitt durch den Anfang der Wachstumszone der weiblichen Ovarialröhre. Der Rhachisstamm rund mit starker Grenzschicht und peripher ausstrahlenden Verzweigungen.
- Fig. 11. Querschnitt durch einen etwas älteren Teil der weiblichen Wachstumszone. Die Rhachisverzweigungen rückgebildet. Die Oogonienkerne oval.
- Fig. 12. Querschnitt durch den mittleren Teil der Wachstumszone. Die Randschicht der Rhachis stark reduziert; im Zentrum der Rhachis ein lockeres Fasernetz. Die Zellgrenzen der Oogonien treten auf, das Chromatin ihrer Kerne sammelt sich zu grösseren Klumpen.
- Fig. 13. Querschnitt durch die männliche Rhachis der Keimzone mit zwei Rhachiskernen.
- Fig. 14. Spermiogonienkern mit Chromatinbrocken von unregelmässiger Gestalt.
- Fig. 15. Spermiogonienkern, Chromatin kurze Stäbchen.
- Fig. 16 und 17. Spermiogonienkerne mit geschlängelten Chromatinfäden.
- Fig. 18. Spermiogonienkern, dessen Chromatinfäden nur noch gebogen oder schon gerade geworden sind.
- Fig. 19. Spermiogonienkern ohne Membran mit stark verkürzten Chromatinstäbchen, die einen Querspalt aufweisen und eine Parallellagerung andeuten.
- Fig. 20. Spermiogonienkern bei Polansicht mit elf Chromosomen.
- Fig. 21 a—c. Seitenansicht von Spermiogonienspindeln mit kompakter und geteilter Äquatorialplatte und einzelnen Chromosomen einer zerschnittenen Äquatorialplatte, um die Stellung der Chromosomen zu veranschaulichen.
- Fig. 22. Spermiogonienkern weit differenziert mit drei Nukleolen, davon einer stäbchenförmig.
- Fig. 23. Eine losgerissene Spermiogonienzelle aus dem Beginn der Wachstumszone (I. Nukleolusstadium).
- Fig. 24. Spiremstadium, Kern oval mit undeutlicher Membran, das Chromatin beginnt zu verklumpen, dazwischen ein achromatischer Faden, ausserdem zwei grössere Brocken (Nukleoli).

- Fig. 25 a—c. Synapsisstadien vor der Mitte der Wachstumszone; bei a und b Membran nicht nachweisbar. Das Chromatin weiter verklumpt. c Deutlicherwerden des Gesamtbildes.
- Fig. 26 a—i. Langgestreckte Knäuelstadien aus der Mitte der Wachstumszone.
- Fig. 27. Spermiogonienstadium aus dem Ende der Wachstumszone.
- Fig. 28 a—c. Spermiogonienkerne aus dem Ende der Wachstumszone.
- Fig. 29. Übergang zum kugligen Spermiocytenstadium.
- Fig. 30 a und b. Junge Spermiocyten erster Ordnung; das Chromatin fadenförmig.
- Fig. 31 a und b. Junge Spermiocyten erster Ordnung; die Chromatinfäden werden deutlicher und lassen bei b schon teils eine Zusammensetzung aus mehreren Chromosomen erkennen.
- Fig. 32 a und b. Spermiocyten erster Ordnung vor der Spindelbildung; Tetraden schon deutlich zum Teil einander parallel gestellt.
- Fig. 33 a—c. Polansichten der ersten Reifeteilung (Rosettenstadium); das Monosom fällt durch seine Kleinheit auf. d Spindel von der Seitenansicht.

Tafel IX.

- Fig. 38, 39, 45, 46: Fixation Flemming, gefärbt mit Safranin-Lichtgrün.
- Fig. 45: Heidenhain. Fig. 34—37, 48, 56—71: Fixation Bouin, gefärbt mit Böhmers Hämatoxylin, Gentianaviolett-Orange G, meist Gram.
- Fig. 40—44, 47, 49: Ausstriche! Fixation Osmiumsäuredämpfe, gefärbt nach Giemsa oder May-Grünwald.
- Fig. 34 a—c. Anaphasen der ersten Reifeteilung mit und ohne heterotypischer Bewegung eines Chromosoms.
- Fig. 35 a—d. Tochterplatten von der Polansicht.
- Fig. 36 a—e. Zweite Reifeteilung, a und c Polansichten mit sechs und fünf Chromosomen; e Heterokinese.
- Fig. 37 a—f. Zweite Reifeteilung, von c ab Polansichten der Tochterplatten.
- Fig. 38 a und b. Junge Spermatiden mit kugligem Kern; bei b schon exzentrisch lagernd.
- Fig. 39. Streckung der Spermatide, b Kern zuckerhutförmig.
- Fig. 40—42. Die gleichen Stadien an Ausstrichpräparaten gewonnen; in ihrer ganzen Gestalt grösser, der Kern lockerer, ein Fadenknäuel bildend.
- Fig. 43. Spermiocyte erster Ordnung (Ausstrichpräparat).
- Fig. 44 a—d. Ausbildung der Ejakulationsstadien; das Hinterende keulenförmig angeschwollen, die Oberfläche des Plasmaanhangs warzig.
- Fig. 45 a—c. Spermatiden im kugligen Hinterende kappenförmiger Körper, im Plasmaanhang zahlreiche stark gefärbte Körnchen.
- Fig. 46 a—d. Spermatidenumbildung von Sclerostomum vulgare; ein Teil des Chromatins wandert in den Plasmaanhang.
- Fig. 47. Spermatide gefärbt nach May-Grünwald mit kappenförmigem Körper im Hinterende und dunkler gefärbtem Kernteil vor dem Übergang in den Plasmaanhang.

- Fig. 48. Querschnitt durch die Uteruswand (Uw.) mit Kern (K.) und anheftenden Spermatiden (Sp.).
- Fig. 49 a—e. Umwandlungsformen aus dem Uterus. e befruchtungsfähiges Spermium, gefärbt nach Giemsa.
- Fig. 50. Längsschnitt durch die weibliche Rhachis der Keimzone mit grossem Rhachiskern (Rhk.); im umgebenden Syncytium ein Zwischenkörper (Zwk.).
- Fig. 51. Längsschnitt durch die weibliche Rhachis (Beginn der Wachstumszone) mit Rhachiskern.
- Fig. 52. Oogonienkern, das Chromatin in Brocken auf einem achromatischen Faden verteilt.
- Fig. 53 a—d. Vier Zwischenkörper in verschiedenen Stadien der Rückbildung.
- Fig. 54. Oogonienkern aus dem Anfang der Wachstumszone; das Chromatin auf einem Faden verteilt.
- Fig. 55. Oogonienkern aus der Wachstumszone, dichtes Knäuelstadium.
- Fig. 56. Oogonienkern aus der Wachstumszone, lockeres Knäuelstadium.
- Fig. 57. Oogonienkern aus der Wachstumszone; das Chromatin zieht sich auf dem Faden an einigen Punkten zusammen.
- Fig. 58 und 59. Zwei isolierte Kerne bei stärkerer Vergrösserung, welche die chromatischen Elemente deutlich als Tetraden erkennen lassen.
- Fig. 60. Eine kuglige Richtungsspindel an der Eiperipherie; die undeutlichen Tetraden der Membran noch parallel gerichtet.
- Fig. 61. Kuglige Richtungsspindel, die Tetraden senkrecht zur Eimembran.
- Fig. 62. Richtungsspindel von *Sclerostomum equinum* bei halber Polansicht mit sehr schlanken Tetraden.
- Fig. 63. Richtungskörper mit zwei kleineren Tetraden.
- Fig. 64. Anaphase bei der ersten Richtungskörperbildung mit heterotypischer Bewegung einer Chromosomengruppe.
- Fig. 65. Anaphase bei der ersten Richtungskörperbildung mit Aufspaltung der Dyaden.
- Fig. 66. Anaphase bei der ersten Richtungskörperbildung, Polansicht.
- Fig. 67. Anaphase bei der ersten Richtungskörperbildung bei schräger Polansicht, die Dyaden schon ganz aufgespalten.
- Fig. 68. Anaphase der ersten Richtungskörperbildung, Seitenansicht, Tonnenform.
- Fig. 69. Zweite Richtungsspindel (II Sp.) und erster Richtungskörper (I Rk.).
- Fig. 70. Ei mit erstem und zweitem Richtungskörper und männlichem und weiblichem Vorkern.
- Fig. 71. Ei mit Richtungskörper und dem gerade entstehenden männlichen und weiblichen Vorkern.
- Fig. 72. Späteres Entwicklungsstadium der Vorkerne.
- Fig. 73. Richtungsspindel (Rsp.) und Spermakern (Sp.) dicht nebeneinander.

Tafel X.

Fig. 74—83, 86—94: Fixation Bouin, gefärbt nach Gram oder Böhmers Hämatoxylin. Fig. 84 und 85: Fixation Helly, gefärbt mit Böhmers Hämatoxylin.

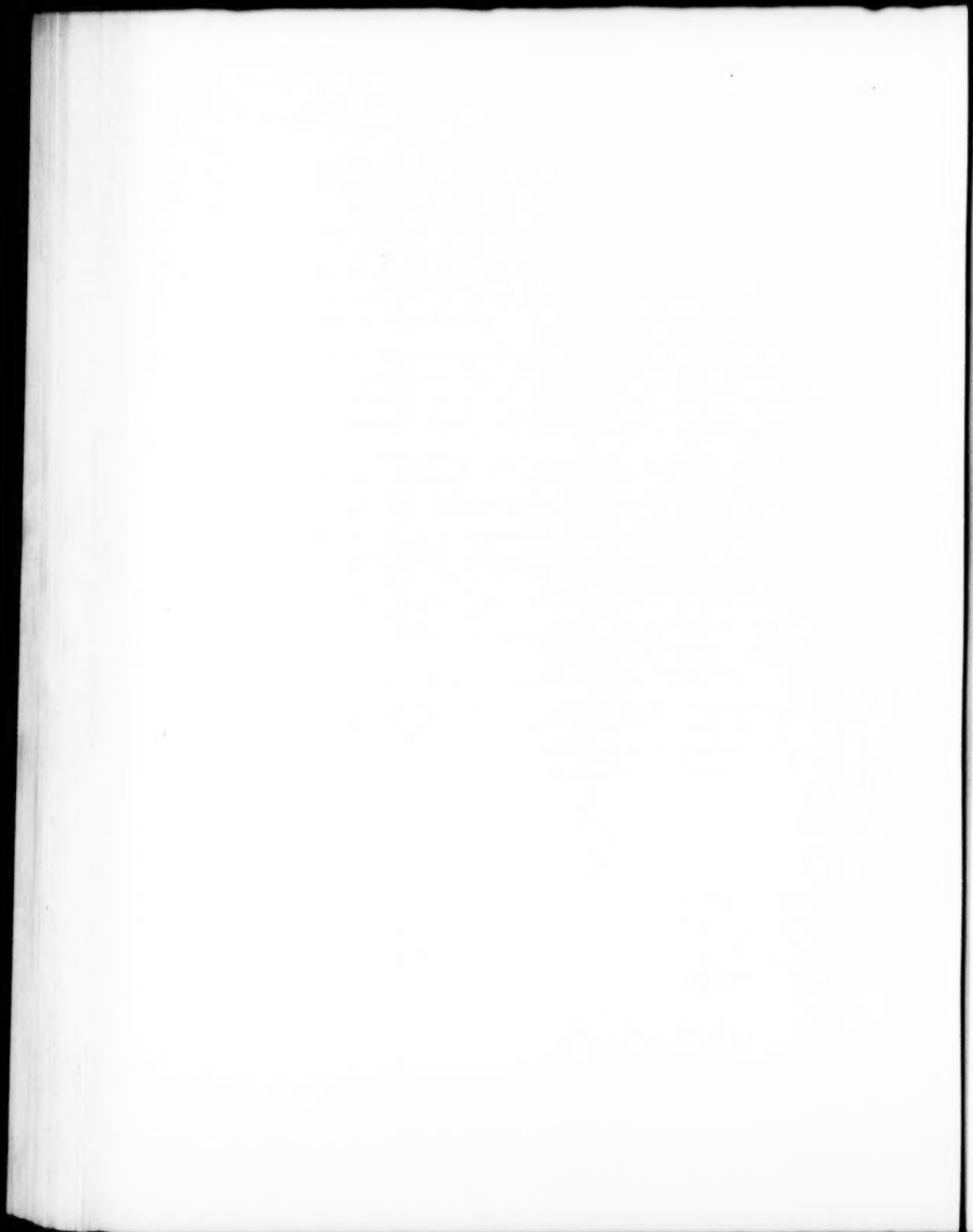
- Fig. 74 und 75. Ungleich entwickelte Vorkerne (Vk.), zur Seite Richtungskörper (Rk.).
- Fig. 76. Die beiden Vorkerne (Vk.) dicht nebeneinander, der männliche mit zwei Centrosomen mit Plasmastrahlung.
- Fig. 77. Die Vorkerne rücken übereinander.
- Fig. 78. Erste Furchungsspindel mit Rest der Kernmembran (Km.).
- Fig. 79. Die beiden Vorkerne halb verschmolzen, im Innern das Chromatin in zahlreichen Pünktchen, noch keine Chromosomen erkennbar.
- Fig. 80. Furchungskern mit geschlängelten Chromosomen.
- Fig. 81. Vereinigung zweier ungleicher Vorkerne.
- Fig. 82. Zwei Vorkerne, die beide schon deutlich geschlängelte Chromosomen aufweisen.
- Fig. 83. Vereinigung zweier Vorkerne, die beide schon Chromosomen ausgebildet haben.
- Fig. 84. Polyspermie bei einem abgekühlten Ei.
- Fig. 85 a—d. Schnittserie durch ein Ei, das trotz Polyspermie Spindeln ausgebildet hat.
- Fig. 86. Erste Furchungsspindel, Centrosom (C.) mit Nebenkörnchen (Nk.).
- Fig. 87. Erste Furchungsspindel von der Polansicht, Centrosom mit Nebenkörnchen (Nk.).
- Fig. 88. Anaphase der ersten Furchungsspindel.
- Fig. 89. Durchschnürung des Eiplasmas: jeder Blastomerenkern schon von einer Membran umgeben, das Chromatin wieder in Bröckchen verteilt.
- Fig. 90—92. Eier, die eine verschiedene Stellung der ersten Teilebene aufweisen.
- Fig. 93. Ei aus der Vagina eines *Sclerostomum equinum*.
- Fig. 94. Ei aus dem Uterus eines *Sclerostomum edentatum*.

Erklärung der Textfiguren.

Fig. A—C: Fixation Helly, gefärbt mit Böhmers Hämatoxylin.

Fig. D—H: Fixation Bouin, gefärbt mit Böhmers Hämatoxylin.

- Textfig. A (S. 205). Querschnitt durch einen etwas älteren Teil der Wachstumszone der Ovarialröhre. Die Rhachis hat ihre grösste Ausdehnung überschritten. Das Plasma der umliegenden Oogonienzellen nimmt durch Dotteraufspeicherung blasiges Aussehen an. Das Chromatin der grösser gewordenen Kerne hat sich auf wenige Reste an einer Stelle zusammengezogen.
- Textfig. B (S. 238). Querschnitt durch den unteren Teil der Wachstumszone. Die Rhachis weiter reduziert. Im Plasma der Oogonien treten stark färbbare Körnchen auf, die einen Vorrat für die zu bildende Eihülle darstellen. Der Chromatinklumpen zeigt unregelmässige Gestalt.
- Textfig. C (S. 238). Querschnitt durch das Ende der Ovarialröhre. Die Rhachis in einzelne Fasern aufgelöst. Die Oogonien zeigen im Plasma weitere Vermehrung der Vorratsstoffe zur Eihüllenbildung. Der Chromatinklumpen wird lockerer.
- Textfig. D und E (S. 241). Zwei Eier aus dem Eileiter, E kurz vor Eintritt in den Uterus mit Chromatinelementen (Chr. el.) im Kerngerüst (Kg.) und zwei Nukleolen (Nuc.).
- Textfig. F und G (S. 244). Zwei Eier aus dem oberen Uterusteil, das Liningerüst (Li.) des Kernes durch Böhmers Hämatoxylin stark gefärbt. Bei G verlassen die Tetraden (Chr.) gerade das Kerngerüst und wandern ins Eiplasma.
- Textfig. H (S. 245). Frisch befruchtetes Ei; zeigt noch den Rest der zur Eihüllenbildung aufgespeicherten Reservekörper (Rsvk.), am Rand die Richtungsspindel (Rsp.) bei schräger Aufsicht, das Spermium (Sp.) und das zusammengeschrunppte Liningerüst (Li.).



Aus dem Anat.-Biologischen Institut zu Berlin und der Zoologischen Station
zu Neapel.

Beeinflussung der männlichen Keimzellen durch chemische Stoffe.

Von
Günther und Paula Hertwig.

Hierzu Tafel XI, XII und 6 Textfiguren.

Inhalt.		Seite
Einleitung		267
A. Experimenteller Teil		268
I. Bastardierungsexperimente an den Eiern von <i>Rana esculenta</i> mit chemisch vorbehandeltem Samen von <i>Rana fusca</i>		268
II. Versuche an den Samenfäden von <i>Rana esculenta</i> mit Chloral- hydrat, Nikotin und Strychnin		277
III. Versuche an den Samenfäden von <i>Gobius jazo</i> mit Methylen- blau und Methylgrün		278
IV. Versuche an den Samenfäden von Seeigeln mit Chloral- hydrat, Strychnin, Nikotin, Methylgrün, Kristallviolett und Methylenblau		282
B. Zytologische Untersuchungen über das Schicksal des durch Methylenblau geschädigten Spermachromatins im Seeigelei		290
C. Allgemeiner Teil		296
Die verschieden grosse Resistenz des Sperma gegen chemische Mittel:		
a) bei Vertretern von verschiedenen Spezies		298
b) bei verschiedenen Tieren derselben Spezies		299
c) der einzelnen Samenfäden desselben Tieres		299
Selektion der methylenblaufesten Spermien bei den 15—18 stün- digen Seeigelexperimenten		300

Einleitung.

In zwei Mitteilungen an die Akademie der Wissenschaften hat O. Hertwig über Keimesschädigungen berichtet, die er durch Behandlung von Samenfäden von *Rana fusca* durch eine Anzahl von chemischen Mitteln, wie Methylenblau, Chloralhydrat und Strychnin, erzielt hat. Genau so wie durch Bestrahlung der Spermatozoen mit Radium konnten auch durch schwache wässrige Lösungen der genannten Chemikalien, die auf die

Samenflüssigkeit einige Zeit einwirkten, die Samenfäden in ihrer Konstitution derart verändert werden, dass die mit ihnen befruchteten, gesunden Eier eine abnorme Entwicklung einschlugen. Die auf diesem Wege erzielten missbildeten Embryonen glichen in vieler Hinsicht den parthenogenetischen Larven, die durch intensive Radiumbestrahlung der Samenfäden gewonnen wurden. Daher sprach O. Hertwig die Vermutung aus, dass auch die Larven in seinen chemischen Versuchen zum Teil auf parthenogenetischer Grundlage sich entwickelt hätten. Der Zweck unserer Arbeit ist es nun, für diese Annahme durch geeignete Experimente den Beweis zu erbringen, dann aber auch die von O. Hertwig an Amphibien begonnenen Untersuchungen auf andere Tierklassen auszudehnen und an geeigneten Objekten das Schicksal des durch chemische Eingriffe veränderten Spermachromatins während der Entwicklung mikroskopisch zu verfolgen.

Über unsere Experimente wollen wir in drei Abschnitten berichten. Im ersten Teil wird durch Kombination von Bastardierung und Behandlung der Samenfäden mit chemischen Agentien der Nachweis geführt werden, dass die Entwicklung von Eiern, die mit artfremdem, chemisch geschädigtem Sperma besamt wurden, tatsächlich zu einer parthenogenetischen wird. Im zweiten Teil werden wir analoge Experimente an Vertretern der Klasse der Fische und Echinodermen beschreiben und schliesslich an dritter Stelle das Verhalten des chemisch geschädigten Spermachromatins an mikroskopischen Schnitten durch Seeigeleier verfolgen.

Die Versuche an Fischen und Seeigeln wurden in den Monaten März und April an der Zoologischen Station in Neapel ausgeführt, wo wir durch das preussische Kultusministerium einen Arbeitsplatz erhalten hatten. Wir ergreifen gerne die Gelegenheit, dem Leiter der Zoologischen Station, Herrn Prof. R. Dohrn, für die liebenswürdige Aufnahme und die mannigfaltige Unterstützung bei unseren Arbeiten unseren besten Dank auszusprechen.

Experimenteller Teil.

I. Bastardierungsexperimente an den Eiern von *Rana esculenta* mit chemisch vorbehandeltem Samen von *Rana fusca*.

In seiner Arbeit „Parthenogenesis bei Wirbeltieren, hervorgerufen durch artfremden, radiumbestrahlten Samen“ hat Günther

Hertwig den Nachweis geführt, dass bei einer Reihe von Bastardierungsexperimenten, bei denen das Kreuzungsprodukt infolge der disharmonischen Idioplasmaverbindung stets auf dem Blastulastadium abstirbt, das Entwicklungsergebnis erheblich besser ausfällt, wenn die artfremden Samenfäden vor der Vereinigung mit dem Ei für einige Zeit der Einwirkung von Radiumstrahlen ausgesetzt wurden. Die Erklärung für dieses auffällige Resultat wurde in der durch die Radiumbestrahlung herabgesetzten oder ganz aufgehobenen Vermehrungsfähigkeit des väterlichen Chromatins erblickt, durch die eine disharmonische Verbindung des mütterlichen und väterlichen Chromatins mit ihren für die Entwicklung so schädlichen Folgen verhindert wird. Die Entwicklung des mit artfremdem, radiumbestrahltem Sperma besamten Eies ist als eine parthenogenetische zu bezeichnen, da allein der Eikern sich vermehrt und den Kernapparat des Embryos bildet. Die Richtigkeit dieser Anschauung konnte einmal von G. Hertwig dadurch nachgewiesen werden, dass er durch Messungen die haploide Natur der Kerne bei seinen Versuchstieren feststellte; ferner ergaben die mikroskopischen Untersuchungen von P. Hertwig am Froschei, von Oppermann bei der Forelle und von G. Hertwig am Seeigellei mit aller Deutlichkeit die Vermehrungsunfähigkeit des intensiv radiumbestrahlten Samenkerns und seine Ausschaltung während der ersten Teilungen des Eies. Inzwischen ist auch noch bei einigen anderen Bastardkombinationen, die gleichfalls normalerweise auf dem Blastulastadium absterben, das zuerst am Frosch und an der Kröte ausgeführte Experiment mit demselben Erfolg angestellt worden, so von O. Hertwig bei Triton \times Salamander, sowie von uns bei einer Fischkreuzung *Crenilabrus* \varnothing \times *Gobius* σ , ein Versuch, über den wir demnächst in diesem Archiv berichten werden.

Die Bastardverbindungen, bei denen das Zeugungsprodukt auf dem Blastulastadium abstirbt, lassen sich nun, wie aus dem soeben Gesagten hervorgeht, umgekehrt auch zur Entscheidung der Frage benutzen, ob eine Behandlung der Samenfäden mit chemischen oder physikalischen Agentien zu einer Schädigung ihrer Kernsubstanz geführt hat. Ergibt sich bei dem Experiment, dass die Entwicklung nunmehr über das Blastulastadium hinaus zur Embryobildung fortschreitet, so ist damit der Beweis erbracht, dass die Kernsubstanz des Samenfadens durch die Vorbehandlung

tatsächlich geschädigt ist und in ihrer Vermehrungsfähigkeit gelitten hat.

Zu unseren Experimenten benutzten wir die schon von G. Hertwig bei seinen Radiumexperimenten verwandte Bastardkombination *Rana esculenta* ♀ × *Rana fusca* ♂; von Chemikalien liessen wir Strychninum nitricum, Chloralhydrat und Methylenblau auf die Samenfäden einwirken; unter diesen drei chemischen Mitteln erwies sich in der angewandten Konzentration das erste als unwirksam, während die beiden anderen positive Resultate ergaben. Zu jedem Experiment wurde ein Hoden in einigen Tropfen 0,3proz. Kochsalzlösung möglichst fein zerzupft und die so gewonnene konzentrierte Samenmilch dann mit dem gleichen Teil der chemischen Lösung versetzt und gründlich durcheinandergührt. Nach einem bestimmten Zeitintervall wurde dann dieses Gemisch in der zur Befruchtung geeigneten Verdünnung mit 0,3proz. Kochsalzlösung zur Besamung der Eier verwandt.

a) Versuche mit Strychnin.

Am 16. Mai wurde der noch von Spermatozoen strotzende Hoden eines seit März in einem kühlen Raum aufbewahrten Männchens von *Rana fusca* in 0,3proz. Kochsalzlösung zerzupft und dann die Samenmilch mit dem gleichen Teil einer 0,75proz. Strychninum-nitricum-Lösung mit 0,3% Kochsalzzusatz gut verührt. Nach 1 $\frac{1}{4}$ Stunden wurde dies Gemisch, in dem die Samenfäden noch lebhaft beweglich waren, zur Befruchtung von etwa 60 Stück Eier von *Rana esculenta* benutzt. Die gute Beschaffenheit des Eimaterials wurde gleichzeitig durch eine Normalbefruchtung festgestellt. Drei Stunden nach der Besamung begann in dem Strychninversuch die Teilung der Eier, die bei der Hälfte zur normalen Zwei- und später Vierteilung führte, während sich die andere Hälfte mehr oder minder stark unregelmässig infolge von Polyspermie furchte. Wie ja schon aus den Experimenten von Pflüger und Born bei derselben Kreuzung hervorgeht, und wie wir durch unsere Versuche erneut bestätigen können, ist das Verhältnis, in dem sich die Eier von *Rana esculenta* mit dem Samen von *Rana fusca* monosperm befruchten lassen, je nach dem Eimaterial und der Konzentration des Samens ein sehr wechselndes. So kann es vorkommen, dass fast alle Eier mehrfach befruchtet werden, während ein andermal die Samenfäden

bei einer grossen Anzahl von Eiern überhaupt nicht in das Einnere zu dringen vermögen und dann die von Born zuerst beschriebene „Eindellung“ der Eier hervorrufen. In unserem Strychninversuch unterblieb die Eindellung ganz, da kein Ei unbefruchtet war.

Zwei Tage nach der Befruchtung gastrulierten die mit artgleichem Samen befruchteten Kontrolleier in normaler Weise, während die Eier des Strychninversuches das Blastulastadium nicht überschritten hatten; nur bei vier Stück hatte sich eine Art Riesendotterpfropf gebildet, eine Erscheinung, die man jedoch auch bei normaler Kreuzung ohne Strychninbehandlung des Samens beobachten kann, wie schon G. Hertwig in seiner Arbeit (1912) beschrieben hat und wie wir durch Kontrollversuche bestätigen können. Am nächsten Tage waren sämtliche Eier des Strychninversuches abgestorben, ohne sich weiter entwickelt zu haben. Im Gegensatz zu O. Hertwigs Versuchen mit 0,25proz. Strychninlösung, die er $\frac{1}{2}$ —2 Stunden auf die Samenfäden von *Rana fusca* einwirken liess und durch die er starke Missbildungen hervorrufen konnte, haben wir also in unseren Bastardierungsversuchen trotz einer dreimal so starken Strychninlösung keine Schädigung der Samenfäden feststellen können, die zu einer Vermehrungsunfähigkeit oder -beschränkung ihres Chromatins führte.

b) Versuche mit Chloralhydrat.

Günstiger verlief in dieser Hinsicht ein Versuch mit Chloralhydrat, den wir am 20. Mai anstellten, während ein anderer Versuch am 16. Mai ebenfalls ergebnislos geblieben war.

Am 16. Mai benutzten wir eine Samenflüssigkeit, die zur Hälfte mit einer 0,5proz. Lösung von Chloralhydrat vermischt worden und eine halbe Stunde in dieser Mischung geblieben war. Sämtliche 25 Eier, die mit dieser Flüssigkeit besamt und monosperm befruchtet worden waren, starben auf dem Blastulastadium ab.

Am 20. Mai wiederholten wir den Versuch mit einer schwächer konzentrierten Chloralhydratlösung von 0,25 0/0. Von der mit dieser Lösung zu gleichen Teilen versetzten Samenflüssigkeit benutzten wir eine Portion nach einer viertel Stunde, eine andere nach einer Stunde zur Kreuzbefruchtung. Diesmal war das Verhältnis der regelmässig zwei- und viergeteilten, also monosperm

befruchteten Eier ein ganz besonders günstiges, da von je 40 Eiern sich nur etwa drei bis vier Stück unregelmässig furchten und nur ganz vereinzelte unbefruchtete die Dellenbildung zeigten. Die Eier der ersten Portion, die nach einer viertel Stunde Chloralhydrateinwirkung befruchtet worden waren, entwickelten sich nicht über das Blastulastadium hinaus. Dagegen boten die Eier der zweiten Portion am 23. Mai folgendes Bild dar: Bei einem Ei hatte sich ebenso wie bei den mit artgleichem Samen befruchteten Kontrolleiern die Nervenplatte gebildet. Vier andere Eier besaßen einen engen Dotterpfropf, bei zehn weiteren Stück hatte die Gastrulation zur Bildung eines Riesendotterpfropfes geführt. Der Rest von zehn Eiern war auf dem Blastulastadium stehen geblieben und am nächsten Tag zerfallen. Am 24. Mai war bei zwei Eiern das Nervenrohr fast geschlossen, die anderen Eier hatten sich zu mehr oder minder gut ausgebildeten *Spinae bifidae* entwickelt, von denen ein Teil konserviert wurde. Sie boten dasselbe Bild dar, wie die von O. und G. Hertwig in ihren Studien über die Radiumkrankheit beschriebenen und abgebildeten *Spinae bifidae*, so dass auf ihre nähere Beschreibung hier verzichtet werden kann.

Im Laufe der nächsten Tage starben in dem Chloralhydratversuch noch vier Stück ab, so dass am 27. Mai nur noch vier Embryonen lebten, von denen drei am 27. Mai, der letzte am folgenden Tage konserviert wurden. Drei von ihnen sind mit einer gleichaltrigen Kontrollarve auf Fig. 1—4 (Taf. XI) abgebildet. Sie sind sämtlich in der Entwicklung stark zurückgeblieben, besonders der Schwanz ist ganz verkümmert; bei dem einen Embryo ist die Schwanzanlage, wie man deutlich auf der Abbildung (Fig. 2) erkennt, verdoppelt. Dieser schlechten äusseren Entwicklung entspricht auch die innere Differenzierung der Organe, wie die mikroskopische Untersuchung ergab. Die Augenanlage war oft verkümmert, die Ventrikelhöhlen stark erweitert und mit zerfallenen Zellhaufen in ihrem Innern angefüllt. An der Epidermis konnten auch wieder, wie bei den radiumkranken Larven von O. Hertwig, zottige Exkreszenzen festgestellt werden.

Vergleichen wir das Ergebnis dieses Versuches mit den erheblich günstigeren Entwicklungsergebnissen, die G. Hertwig durch Radiumbestrahlung der Samenfäden von *Rana fusca* an den Eiern von *Rana esculenta* erhielt, sowie mit den sogleich

zu besprechenden gleichfalls erheblich besseren Erfolgen unserer Methylenblauversuche, so ergibt sich ohne weiteres, dass von einer völligen Ausschaltung des Spermachromatins infolge der Vernichtung seiner Vermehrungsfähigkeit durch das Chloralhydrat keine Rede sein kann. Selbst bei den am besten entwickelten Embryonen müssen wir eine gewisse, wenn auch durch das Chloralhydrat beeinträchtigte Mitbeteiligung des Spermachromatins an der Entwicklung und dadurch verursachte Schädigung des Embryos annehmen. Denn die rein parthenogenetische Entwicklung bei *Rana esculenta* verläuft, wie G. Hertwig gezeigt hat, viel normaler. Immerhin geht aus unserem Versuch mit aller Deutlichkeit hervor, dass durch Chloralhydrat eine Schädigung der Kernsubstanz des Samenfadens von *Rana fusca* ohne Beeinträchtigung seiner Beweglichkeit erzielt werden kann; dieselbe war aber bei unseren Experimenten offenbar viel geringer als bei O. Hertwig, der in seinen Versuchen mit gleich starken Chloralhydratlösungen 12 Tage alte parthenogenetische *Rana fusca*-Larven erzielte. Auch ist bei unseren Experimenten der geringe Prozentsatz von Samenfäden auffallend, bei denen eine Veränderung der Kernsubstanz durch das Chloralhydrat erfolgte; denn in dem mit positivem Ausfall angestellten Experiment starb ja fast die Hälfte der Eier als Blastulae ab; nur etwa 60% gastrulierten und bei diesen war wieder die Entwicklung eine sehr verschieden gute, indem ein Teil stark missbildete Spinae bifidae, ein anderer Teil normaler ausgestaltete Embryonen lieferte. Es ist dies ein deutliches Zeichen, dass die Schädigung der überhaupt durch das Chloralhydrat beeinflussten Spermatozoen eine verschieden starke war. Auf die Erklärung dieser Verhältnisse werden wir jedoch erst ausführlich am Schlusse unserer Arbeit eingehen.

c) Versuche mit Methylenblau (Zinkchloriddoppelsalz).

Die günstigsten Entwicklungsergebnisse erhielten wir in einem Bastardierungsexperiment, bei dem wir den Samen von *Rana fusca* mit einer 0,05 proz. Methylenblaulösung im Verhältnis 1 : 1 vermischten und eine halbe Stunde einwirken liessen. Diesen Versuch stellten wir am 16. Mai an. 3 Stunden nach der Besamung waren 30 Eier von *Rana esculenta* normal zweigeteilt, andere 20 Stück dagegen mehr oder minder unregelmässig gefurcht. Am 18. Mai war bei 22 Eiern ein ganz enger Urmund zu be-

obachten, bei weiteren vier Stück war der Blastoporus noch nicht so weit geschlossen, andere vier Eier besaßen einen Riesendotterpfropf, während der Rest noch auf dem Blastulastadium verharrte. Am 19. Mai waren Eier, die zur Kontrolle mit unbehandeltem *Rana fusca*-Samen bastardiert worden waren, sämtlich als Blastulae zerfallen, während im Methylenblauexperiment 22 von normalen nicht zu unterscheidende Embryonen mit Kopf- und Schwanzhöcker, ferner weitere acht teils schwache, teils stärkere Missbildungen mit Spina bifida vorhanden waren. Die Anzahl dieser Embryonen entsprach also genau der Zahl der normal zweigeteilten Eier.

Aber auch von den anderen Eiern, die sich beim Beginn der Teilung unregelmässig gefurcht und am Tage vorher noch nicht gastruliert hatten, waren gewisse Abschnitte noch am Leben geblieben, während andere Eipartien weisslich verfärbt und im Zerfall begriffen waren. Schnitte durch diese Eier ergaben als Bestätigung der am lebenden Objekt gemachten Beobachtung, dass neben zerfallenen nekrotischen Partien, in denen keine Kerne zu erkennen waren, sich noch lebende Bezirke nachweisen liessen, die in einzelne Zellen mit gut färbbaren Kernen zerlegt waren. Wenn diese sich noch weiter differenziert hatten, so entstanden

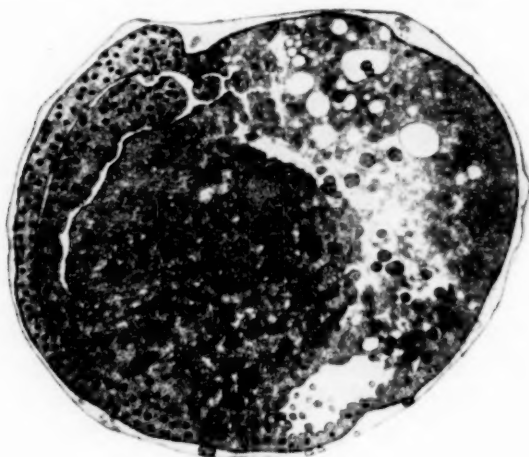


Fig. 1.

Teilbildungen, in manchen Fällen sogar gut ausgebildete Hemiembryones laterales; ein Schnitt durch einen solchen ist in Textfig. 1 abgebildet. Links ist ein halbes Nervenrohr, eine

Chorda und ein Mesodermsegment angelegt, während die rechte Hälfte von einer kernlosen nekrotischen Masse gebildet wird. Die Erklärung für derartige Teilbildungen ist nach den Untersuchungen von Brachet und Herlant an polyspermen Froscheiern nicht schwer zu geben. Sie stammen von den unregelmässig geteilten polyspermen Eiern ab. Die Bezirke des Eies, die nur durch Methylenblau geschädigtes Spermachromatin bei der Furchung zuerteilt bekommen haben, sind frühzeitig zerfallen, dagegen sind die Teile des Eies, in denen sich der Eikern nach mehr oder minder frühzeitiger Ausschaltung des mit ihm kopulierten Spermakernes vermehrt hat, lebens- und differenzierungsfähig geblieben.

Während die Teilbildungen sämtlich im Laufe des folgenden Tages abstarben, soweit sie nicht konserviert worden waren, entwickelten sich die anderen, aus den monosperm befruchteten Eiern hervorgegangenen Embryonen zunächst völlig normal weiter; erst am 26. Mai, am 10. Tage ihrer Entwicklung, machten sich Unterschiede gegenüber normalen, gleichaltrigen Kontrollarven geltend. Denn während diese die Hüllen bereits verlassen hatten und im Wasser herumschwammen, war von den Methylenblauarven nur ein Teil aus den Hüllen herausgeschlüpft und lag unbeweglich auf dem Boden des Gefässes. Auf Berühren mit einer Nadel führten sie nur schwach zuckende Bewegungen aus. Von den normalen Larven unterschieden sie sich ferner durch einen bedeutend kürzeren Schwanz sowie durch das Auftreten von Bauchwassersucht, die in den nächsten Tagen noch erheblich an Stärke zunahm. Infolgedessen machte sich nunmehr auch eine allmählich immer mehr zunehmende Tendenz zum Absterben bemerkbar, so dass im Laufe der nächsten 6 Tage alle Versuchstiere konserviert werden mussten. Drei von den ältesten Larven des Methylenblauversuches sind mit einer gleichalten Kontrolle in Fig. 5—8 (Taf. XI) bei 8facher Vergrösserung abgebildet. Sie wurden am 31. Mai konserviert, haben also ein Alter von 15 Tagen erreicht. An den Abbildungen erkennt man wieder sehr gut die bedeutende Hemmung des Längenwachstums der parthenogenetischen Larven des Methylenblauexperimentes, während ihr Entwicklungsgrad, wie man schon äusserlich an der Umwachsung der Kiemen erkennt, von den normalen Kontrolltieren nicht erheblich differiert. Auch die mikroskopische Untersuchung an Schnitten ergab eine Über-

einstimmung mit den Befunden an den parthenogenetischen Froschlarven und Kröten der Radiumexperimente, nämlich eine bedeutende Grössenabnahme sämtlicher Organe bei annähernd gleichem Differenzierungsgrad im Vergleich zu den Kontrolltieren.

Zum Schlusse seien noch die Resultate von Kernmessungen mitgeteilt, die nach dem Vorbilde und der Methode von G. und O. Hertwig an den Methylenblau- und gleichaltrigen Kontrolllarven vorgenommen wurden. Sie ergeben, dass die Larven des Methylenblauversuches haploide oder thelykaryotische Kerne besitzen. Es wurden die Ganglienzellkerne des Rückenmarks in der Gegend hinter den Ohrbläschen bei 1000 facher Vergrösserung gemessen. Wir geben die Resultate in Tabellenform, wobei die Bezeichnungen Methyl. = Tier des Methylenblauversuches, Co. = Tier des Kontrollversuches bedeuten. Die mit den Nummern I, II, III bezeichneten Tiere des Methylenblau- und des Kontrollversuches wurden immer, um einen genauen Vergleich zu ermöglichen, in gleicher Weise fixiert, mit Paraffin durchtränkt, geschnitten und gefärbt. Alle Tiere hatten ein Alter von 15 Tagen erreicht.

Tabelle I.

Ganglienzellkerne des Rückenmarks.

(Vergrösserung 1000 fach.)

Methyl. oder Co.	Mittlerer Radius r	r ²	r ³
Methyl. I	0,35	0,123	0,043
Co. I	0,47	0,22	0,104
Methyl. II	0,36	0,13	0,047
Methyl. II a	0,36	0,13	0,047
Co. II	0,47	0,22	0,104
Methyl. III	0,38	0,144	0,055
Methyl. III a	0,39	0,15	0,058
Co. III	0,48	0,23	0,11

Die Messungen ergeben in Übereinstimmung mit den Befunden an parthenogenetischen Krötenlarven, dass die Volumina der Ganglienkerne der Larven des Methylenblauexperimentes zu denen normaler Kontrolltiere sich wie 1 : 2 verhalten. Um die bedeutenden Grössenunterschiede zu veranschaulichen, sind in den Textfig. 2 und 3 einige Ganglienzellkerne bei 1000 facher

Vergrößerung von dem in Fig. 7 (Taf. XI) abgebildeten Versuchsembryo und der Kontrollarve Fig. 8, Taf. XI zum Vergleich wiedergegeben.



Fig. 2.

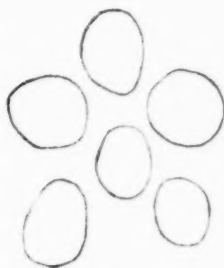


Fig. 3.

Nach dem Ergebnis der Kernmessungen kann es keinem Zweifel unterliegen, dass sich die Larven des Methylenblauversuches nach Ausschaltung des Samenkernes auf parthenogenetischer Basis entwickelt haben. Wir besitzen also im Methylenblau ein Mittel, das in geeigneter Konzentration auf die Samenfasern vor der Befruchtung angewendet, genau so wie die Radium- und Röntgenstrahlen imstande ist, die Kernsubstanz des Spermatozoons, ohne seine Beweglichkeit merklich zu beeinflussen, so zu schädigen, dass dieselbe völlig vermehrungsunfähig wird.

II. Versuche an den Samenfasern von *Rana esculenta* mit Chloralhydrat, Nikotin und Strychnin.

Im folgenden seien die Resultate von Versuchen besprochen, die wir an den Spermien von *Rana esculenta* mit drei chemischen Mitteln angestellt haben. Da dieselben sämtlich zu keinerlei Schädigung der Kernsubstanzen der Samenfasern geführt haben, so genügt eine kurze Schilderung der Versuche.

Zu unseren Versuchen mit Chloralhydrat benutzten wir das eine Mal eine 0,5proz., das andere Mal eine 0,25proz. Lösung, die wir mit der gleichen Menge konzentrierter Samenmilch gut vermischten. Nach je 2 stündiger Einwirkung des Chloralhydrats auf die Samenflüssigkeit befruchteten wir mit derselben eine grössere Anzahl Eier von *Rana esculenta*. In beiden Versuchen nahm jedoch die Entwicklung der Eier einen völlig normalen Verlauf, ganz im Gegensatz zu den Versuchen von O. Hertwig, der bei *Rana fusca* mit gleich stark konzentrierter Chloral-

hydratlösung sogar schon nach nur $\frac{1}{2}$ stündiger Einwirkung auf die Samenfäden eine stark pathologische Entwicklung der Eier erzielte.

Bei den Versuchen mit Nikotin brachten wir eine 0,25proz. und eine 0,15proz. Lösung in Anwendung, die im Verhältnis von 1:1 der Samenmilch zugesetzt 1 Stunde lang auf sie einwirkte. Trotzdem selbst die schwächere der beiden Lösungen noch intensiv nach Nikotin roch, behielten die Samenfäden ihre Beweglichkeit und liessen sich gut zur Befruchtung verwenden. Die Entwicklung der Eier verlief völlig normal, ein Zeichen, dass der Samenkern durch das Nikotin nicht affiziert wurde.

Mit Strychnin machten wir drei Versuche. In einem Versuch liessen wir eine 0,15proz., in einem anderen eine 0,3proz. Lösung von Strychninum nitricum je 1 Stunde auf die in gleichen Teilen zugesetzte Samenmilch von *Rana esculenta* einwirken. In einem dritten Experiment kam eine 0,3proz. Lösung während 17 Stunden zur Anwendung. Selbst durch diese lange Berührung mit der Strychninlösung wurde die Beweglichkeit der Spermien nicht merklich herabgesetzt. In allen drei Experimenten verlief jedoch die Entwicklung der Eier, die mit dem mit Strychnin behandelten Samen befruchtet worden waren, völlig normal. Es sei daran erinnert, dass O. Hertwig bei *Rana fusca* durch eine 0,25proz. Strychninlösung, die er auf die Samenfäden eine halbe und 2 Stunden einwirken liess, in einem Falle eine stark gestörte Entwicklung (*Spinae bifidae*) erzielte, während allerdings ein identischer Versuch an einem anderen Tage ein erheblich besseres Entwicklungsergebnis ergab.

III. Versuche an den Samenfäden von *Gobius jozo* mit Methylenblau und Methylgrün.

Die Entwicklung von Fischeiern suchten wir zu beeinflussen, indem wir sie mit Samen befruchteten, den wir der Einwirkung von Methylenblau und Methylgrün ausgesetzt hatten. Zu diesem Zweck stellten wir zwei verschiedene Experimente an. — In beiden Fällen benutzten wir den Samen von *Gobius jozo*, den wir durch Absaugen aus dem zerpupften Hoden gewannen und im Uhrsälchen mit der gleichen Quantität der chemischen Lösungen gut verrührten. Hierbei wurde beachtet, dass grössere Gewebsbrocken, deren Durchtränkung Schwierigkeiten machen könnte,

nicht in die Lösungen kamen. Wir glauben annehmen zu dürfen, dass alle zur Befruchtung gelangenden Spermien gleichmässig der Einwirkung des chemischen Stoffes ausgesetzt gewesen sind. In den Uhrsälchen, die gut verdeckt in der feuchten Kammer aufgehoben wurden, blieben die Spermien, bis wir in ihrer Beweglichkeit infolge der Wirkung der chemischen Stoffe eine starke Abnahme konstatieren konnten. Während der mit etwas Seewasser versetzte Kontrollsamen noch nach 3 Stunden lebhaft beweglich war, befanden sich in den chemischen Lösungen schon nach 1 Stunde eine grosse Anzahl starrer Spermien, und auch die Beweglichkeit der Überlebenden hatte stark gelitten. Um noch ein gutes Befruchtungsergebnis zu erzielen, liessen wir daher den Samen nicht über 1 Stunde in den Lösungen.

Im ersten Versuch behandelten wir den *Gobiussamen* mit Methylgrün in 0,1proz. Lösung (Zucht C) und mit 0,1 und 0,02proz. Methylenblau (Zucht A und B). Nach 1 Stunde wurden vier Eiportionen von *Gobius jozo* befruchtet, drei mit chemisch behandeltem Samen, eine mit normalem Sperma zur Kontrolle. In allen vier Zuchten erhielten wir ein gutes Befruchtungsergebnis: ebenso erfolgte die zweite Teilung überall nach 1 Stunde 20 Min. ohne Verzögerung. Die Eier, die mit Methylgrünsamen befruchtet worden waren, entwickelten sich auch ferner normal. Wir erhielten aus ihnen nach 13 Tagen langgestreckte Embryonen mit pigmentierten Augen und pulsierendem Herzen, die sich nicht von der Kontrolle unterschieden. Dieser gute Entwicklungsverlauf bewies uns, dass sich der Spermakern normal an der Entwicklung beteiligt hatte.

Hingegen gelang es uns, das Spermachromatin durch Methylenblau zu schädigen, wie die Entwicklungsstörungen der Zuchten A und B zeigten. Hierbei ist zu bemerken, dass, obgleich Methylenblau von etwas verschiedener Konzentration auf A und B eingewirkt hatte, kein grosser Unterschied zwischen den beiden Zuchten bestand. B entwickelte sich nur um ein wenig besser wie A.

Das Versuchsergebnis war folgendes: Schon nach 2 Tagen waren in A und B die meisten Embryonen stark in der Entwicklung hinter den Kontrollen zurückgeblieben. Während in der Kontrolle fast nur Embryonen mit Kopf und Schwanzhöcker waren, bei denen sich die Augenblase zu differenzieren begann, fanden

wir in den „Methylenblauzuchten“ zahlreiche Missbildungen und Spinae bifidae vor. Nur wenige Embryonen zeigten Kopf und Schwanzhöcker, und auch von diesen waren die meisten kürzer als die Kontrolle. Am 5. Tage nach der Befruchtung waren in A und B neben schon abgestorbenen Missbildungen eine grosse Anzahl mehr oder weniger stark pathologischer Embryonen, die zum Teil schon Zerfallerscheinungen zeigten, zu finden. Wir konservierten einen Teil in Pikrinessigsublimat. Fig. 9 und 10, Taf. XI, zeigen Photographien dieser Embryonen.

Ein Beispiel für sehr schlecht entwickelte aber noch lebende Larven sehen wir in Fig. 9 abgebildet. Der Embryo ist vom Dotter nur wenig abgesetzt. Von irgend welcher Organbildung ist nichts zu erkennen. — Etwas besser entwickelt sind andere Embryonen, z. B. der in Fig. 10 dargestellte. Dieser Embryo ist fast doppelt so lang, Kopf und Schwanz heben sich deutlich ab. Doch ist auch er weit in der Entwicklung zurück, wie uns ein Vergleich mit der gleich alten Kontrolle (Fig. 11) zeigt. Bei Fig. 10 sind noch keine Augen zu erkennen, der Schwanz ist kurz und abgestutzt, der Flossensaum undeutlich und trübe. Jede Pigmentbildung fehlt noch. Die Kontrolle dagegen ist bedeutend länger, zeichnet sich durch grosse Durchsichtigkeit der Gewebe aus und zeigt grosse Augen mit schöner Pigmentierung. Der Schwanz ist langgestreckt mit gut ausgebildetem Flossensaum und zahlreichen Pigmentzellen. Auch konnten wir am lebenden Objekt die beginnende Herzpulsation konstatieren.

Unter den Methylenblauembryonen fanden wir neben vielen Missbildungen auch einige vor, und zwar in Zucht B in grösserer Zahl als wie in Zucht A, die sich nicht von der Kontrolle unterschieden. Diese entwickelten sich auch ferner normal und standen am 13. Tage dicht vorm Ausschlüpfen, während nach Ablauf derselben Zeit alle Missbildungen zerfallen waren.

Das Resultat dieses Versuches lässt sich dahin zusammenfassen, dass wir durch einstündige Behandlung des Gobiussperma mit 0,1proz. Methylgrün keine Schädigung der männlichen Keimzellen hervorrufen konnten, jedoch durch Behandlung des Samens mit Methylenblau die Entwicklung der damit befruchteten Eier intensiv beeinflussten. — Auffallend ist nur die sehr ungleichmässige Ausbildung der Methylenblauembryonen: neben Larven, die kaum über die ersten Stadien der Embryobildung hinaus-

gekommen sind (Fig. 9 und 10), fanden sich vereinzelte normale oder fast normale Embryonen vor. Dieses Resultat lässt sich nur erklären, wenn wir annehmen, dass neben vielen mehr oder weniger stark geschädigten Spermien noch ganz gesunde die Befruchtung vollzogen haben. — Eine weitere Möglichkeit, das Auftreten der gut entwickelten Embryonen zu erklären, besteht in der Annahme einer parthenogenetischen Entwicklung derselben. Die Entstehung solcher parthenogenetischer Embryonen wäre so zu erklären, dass einzelne Samenfäden so stark durch die Methylenblauwirkung geschädigt wurden, dass sie zwar durch ihr Eindringen das Ei zur Entwicklung anregten, ihr Chromatin sich aber nicht mehr an dieser beteiligte. Es würde dann ein analoger Fall zu den parthenogenetischen Amphibienlarven O. und G. Hertwigs, zu den Fischembryonen Oppermanns und den parthenogenetischen, im ersten Teil unserer Arbeit beschriebenen Larven von *Rana esculenta* aus dem Methylenblauversuch vorliegen. Dieser Annahme entspricht aber nicht das Aussehen der Embryonen, denn sie zeigen nicht den parthenogenetischen Typus. Alle bisher gezüchteten parthenogenetischen Larven mit haploidem Kernapparat sind kleine lebensschwache Individuen, die ein gewisses Larvenstadium nicht überschreiten. So die Amphibienlarven O. und G. Hertwigs, die Forellenlarven Oppermanns und zahlreiche von uns durch die Radiumbestrahlung der Samenfäden gezüchtete parthenogenetische Gobius- und *Crenilabrus*embryonen, über die wir demnächst berichten werden. Die besprochenen Methylenblaularven sind aber ebenso gut ausgebildet wie die Kontrollen, es ist daher die Vermutung, die normalen Embryonen der Zuchten A und B seien durch Parthenogenese entstanden, von der Hand zu weisen. Weit eher liegt bei den erkrankten Embryonen Parthenogenese oder wenigstens Ansatz dazu vor, die Frage ist aber nicht näher von uns untersucht worden. —

Im allgemeinen Teil wird noch weiter über die hier berührte Frage einer ungleichmässigen Wirkung des Methylenblaus auf die Spermatozoen gesprochen werden.

Wie schon anfangs erwähnt, suchten wir noch in einem anderen Versuch Gobiusperma durch Methylenblau zu schädigen. In diesem Experiment behandelten wir den Samen von Gobius jozo in der oben angegebenen Weise dreiviertel Stunde mit 0,1proz. Methylenblau und befruchteten damit die Eier von *Creni-*

labrus pavo. Die von uns zum erstenmal vorgenommene Kreuzung *Crenilabrus pavo* ♀ × *Gobius jozo* ♂ führt zu einer Entwicklung, die nicht über das Blastulastadium hinausgeht. Wir hofften nun, durch die Befruchtung mit Methylenblausamen die Entwicklung weiter zu bringen, analog den im ersten Teil beschriebenen Froschexperimenten und den Frosch × Kröte-Versuchen G. Hertwigs.

Wir wurden aber in unseren Annahmen getäuscht. Sämtliche Eier starben, wie es bei dieser Bastardierung die Regel ist, auf dem Blastulastadium ab. Schon aus diesem Resultat konnten wir den Schluss ziehen, dass der Gobiussamen durch das Methylenblau in diesem Versuch nicht geschädigt wurde. Dasselbe bewies uns die Untersuchung zweigeteilter Eier, die wir in Zenker fixiert, 8 μ dick geschnitten und nach Cajal gefärbt hatten. Diese Eier zeigten alle normale Spindeln mit zahlreichen gut ausgebildeten Chromosomen. Verklumptes oder bei der Mitose nachhinkendes Chromatin, das bei einer Schädigung des Spermakernes sicher vorhanden wäre, war nicht zu finden.

Es steht also das Resultat dieses Versuches im Gegensatz zu dem ersten Experiment mit Gobiussamen. Im ersten Falle fand eine Schädigung statt, im zweiten Falle nicht. Auf die Erklärung dieser sich widersprechenden Ergebnisse wird im allgemeinen Teil noch näher eingegangen werden.

VI. Versuche an den Samenfäden von Seeigeln mit Chloralhydrat, Strychnin, Nikotin, Methylgrün, Kristallviolett und Methylenblau.

Die Wirkung auf die Samenfäden von Seeigeln untersuchten wir bei einer grösseren Anzahl von chemischen Substanzen. Wir benutzten zu unseren Versuchen:

1. Methylenblau in der Form des Zinkchloriddoppelsalzes in verschiedenen Konzentrationen, deren stärkste 1proz. und deren schwächste 0,02proz. war;
2. Methylgrün in 0,1- und 0,02proz. Lösungen;
3. Kristallviolett in konzentrierter Lösung und zur Hälfte verdünnt.

Ferner wurde die Einwirkung von Chloralhydrat in 0,2proz. Lösung, von Strychnin in Lösungen von 0,75% und 0,37% und von 0,25proz. Nikotin untersucht. — Sämtliche Substanzen waren im Seewasser gelöst worden. — Zu den Experimenten verwendeten

wir die Geschlechtsprodukte von *Sphaerechinus granularis* und besonders die von *Strongylocentrotus lividus*.

Der Einfluss chemischer Agentien auf die Geschlechtsprodukte von Seeigeln ist schon früher einmal von O. und R. Hertwig untersucht worden. Die Arbeit behandelt jedoch in erster Linie die Wirkung chemischer Stoffe auf die Eier vor und nach der Befruchtung, weniger ausführlich die Beeinflussung des Spermas. Besonders wurde meistens die Entwicklung der Zuchten nicht über das zweite Teilungsstadium hinaus verfolgt. Im allgemeinen stimmen unsere Befunde mit den kurzen Angaben O. und R. Hertwigs überein, nur in bezug auf die Nikotinwirkung differieren unsere Beobachtungen.

Meistens verlieren die Spermien in den chemischen Lösungen rascher ihre Beweglichkeit als wie der mit gleichem Quantum Seewasser verdünnte Kontrollsamen. Doch verhielten sich die einzelnen chemischen Stoffe verschieden in ihrer Wirkung auf die Beweglichkeit der Spermien. So gelang es uns häufig in unseren Chloralhydrat-, Methylgrün- und Methylenblaulösungen einen Teil der Spermien bis zu 18 Stunden lebend zu erhalten. Im 0,75- und 0,37proz. Strychnin hingegen waren schon nach $5\frac{1}{2}$ Stunden alle Samenfäden abgestorben. — Eine anregende Wirkung auf die Beweglichkeit der Spermien übte das Nikotin aus. Samenfäden, die in 0,25prozentige Nikotinlösung gebracht wurden, bewegten sich in dieser tumultuarisch. Sobald aber die Spermien aus der Nikotinlösung in reines Seewasser gelangten, liess diese gesteigerte Beweglichkeit äusserst rasch nach und ging bald in Starrheit über. Nikotin wirkte also als Stimulans auf die Spermien; sobald der Reiz aber durch Verdünnung der Lösung mit Meerwasser aufhörte, trat Unbeweglichkeit ein. Wir erhielten aus diesem Grunde auch mit dem Nikotinsamen stets eine sehr schlechte Befruchtung, nur 10—15 % der Eier entwickelten sich. In der Nikotinlösung selbst hielt die lebhafte Bewegung über 2 Stunden an, liess dann allmählich nach und ging schliesslich in Starrheit über.

O. und R. Hertwig, die auch die Reaktion der Spermien auf Nikotinlösungen untersuchten, erwähnen diese Beobachtungen nicht. Sie konstatieren zwar auch im Nikotin die „lebhafteste tumultuarische Bewegung“, sprechen aber nicht von einer Herabsetzung der Bewegungsenergie beim Übertragen in reines See-

wasser. Ja, sie erhielten im Gegensatz zu unseren Versuchen ein gutes Befruchtungsergebnis. Da die Angabe über die Konzentration der Nikotinlösung in der besprochenen Arbeit nicht genau ist, handelt es sich wahrscheinlich um eine sehr viel schwächere Lösung, durch die die Spermatozoen nicht so intensiv in ihrem Bewegungsvermögen beeinflusst wurden.

Die Versuchsanordnung bei unseren chemischen Experimenten war folgende: Aus dem herauspräparierten Hoden wurde in eine Pipette bis zu einer bestimmten Marke Samenflüssigkeit gesaugt und in einem Uhrsälchen mit der chemischen Lösung gut vermischt. Es kamen auf drei Teile Samen ein Teil chemische Lösung. Durch dieses konstante Verhältnis wurde uns ein Vergleich der verschiedenen Experimente ermöglicht. Die Uhrsälchen hoben wir mit einer Kontrolle in der feuchten Kammer auf und zwar bis zu 18 Stunden.

Nach Ablauf der gewünschten Einwirkungsdauer, wurde, häufig mehrmals aus derselben Mischung, ein kleines Quantum Sperma entnommen, mit frischem Seewasser verdünnt und zur Befruchtung der bereitstehenden Eier verwandt. Ehe wir jedoch die Besamung vornahmen, überzeugten wir uns unter dem Mikroskop von der Beweglichkeit der Spermien. In manchen Fällen war diese so schwach, dass wir nur einen sehr geringen Prozentsatz befruchteter Eier erwarten durften. In solchen Fällen regten wir die Spermien zu einer kräftigeren Bewegung durch Zusatz von einigen Tropfen 5proz. Alkohols mit gutem Erfolg an. Wir glaubten uns dieses Mittels unbedenklich bedienen zu können, da durch die Versuche O. Hertwigs nachgewiesen wurde, dass 5proz. Alkohol nicht schädigend auf die Spermien von *Rana fusca* einwirkt. Auch wurde in solchen Fällen stets zu dem Sperma für die Kontrollbefruchtung die gleiche Quantität Alkohol hinzugesetzt. Diese Kontrollen entwickelten sich durchaus normal.

Es stellte sich nun bei unseren Versuchen heraus, dass weder Methylgrün und Kristallviolett, noch Chloralhydrat, Strychnin oder Nikotin, Schädigungen des Chromatins der nach dem Einwirken der chemischen Lösungen noch befruchtungsfähigen Spermien hervorriefen. Es konnte zwar, besonders nach längerem Verweilen in den genannten Lösungen, eine grössere Anzahl starrer Spermien festgestellt werden, die auch im frischen Seewasser ihre Beweg-

lichkeit nicht wiedererlangten. Die noch befruchtenden Samenfäden aber veranlassten keine Entwicklungsstörungen, einerlei wie lange und in welcher Konzentration die Agentien auf sie eingewirkt hatten. Ein Verweilen von $\frac{1}{2}$, 1, 2, 5 oder 16 Stunden in den verschieden starken Lösungen konnte keine Änderung in der Entwicklung der mit diesen Samenfäden befruchteten Eier hervorrufen. Die ersten Teilungen erfolgten regelmässig und gleichzeitig mit denen der Kontrolleier, und die Kulturen entwickelten sich zu normalen Plutei.

Wir kommen nun zur Besprechung unserer Versuche über die Wirkung des Methylenblaus, das im Gegensatz zu den anderen von uns untersuchten chemischen Stoffen einen schädigenden Einfluss auf das Chromatin von Seeigelspermien hatte. Wir benutzten zu diesen Experimenten in erster Linie die Spermatozoen von *Strongylocentrotus lividus*, manchmal aber auch die von *Sphaerechinus granularis*. Die Samenfäden beider Arten reagierten im allgemeinen gleichartig auf das Methylenblau; wo Unterschiede auftraten, wird es besonders erwähnt werden.

Seeigel sind wohl nicht das günstigste Objekt, um Entwicklungsstörungen zu beobachten. Der Pluteus ist noch ein sehr junges larvales Stadium und es ist durchaus nicht gesagt, dass sich leichte Schädigungen nicht erst durch spätere Entwicklungsstörungen bemerkbar machen könnten.

Wenn also im folgenden von nicht schädigender Wirkung des Methylenblaus die Rede ist, heisst das nur, dass Anomalien bis zur Bildung des Pluteus nicht zu erkennen waren; ob solche noch später aufgetreten wären, muss dahingestellt bleiben.

Es sei gleich von Anfang an bemerkt, dass der Ausfall der Versuche ein sehr ungleichmässiger war. So gelang es uns meistens, durch 2stündige Methylenblaubehandlung Entwicklungsstörungen in den mit diesem Sperma befruchteten Eiern hervorzurufen. In einem anderen Versuch hingegen verlief die Entwicklung trotz 2stündiger Methylenblaubehandlung von gleicher Konzentration bei einer grossen Anzahl von Eiern normal. — Ferner war die Entwicklung in jeder einzelnen Zucht eine sehr ungleichmässige. Stets waren in sich schlecht entwickelnden Kulturen einige bessere, meist auch einige normale oder fast normale Larven zu finden, und ebenso in Zuchten mit gutem Entwicklungsergebnis eine, wenn auch nicht grosse, Anzahl von

Stereoblastulae und Stereogastrulae. In diesem Punkte besteht ein Unterschied zwischen den Entwicklungsschädigungen, die durch Radiumbestrahlung des Spermas hatten hervorgerufen werden können. Wie O. Hertwig beschrieben hat, und wie es ferner von G. Hertwig durch zytologische Untersuchungen näher ausgeführt wurde, sind bei Radiumschädigung alle Eier nahezu gleichmässig von Entwicklungsstörungen ergriffen.

Trotz dieses ungleichmässigen Ausfalls der Experimente liessen sich folgende Resultate klar erkennen: Bei einer Behandlung der Spermatozoen mit Methylenblau (von 1—0,1 %) von weniger als 2 Stunden zeigte sich fast nie eine Einwirkung der chemischen Substanz. Verblieben die Spermatozoen jedoch 2 Stunden in den Lösungen, machten sich starke Entwicklungsstörungen bemerkbar. So verlief ein Versuch vom 12. April wie folgt. Nach 2 stündiger Behandlung des Samens mit 1proz. Methylenblau wurde um 3 Uhr 15 Minuten befruchtet. Nahezu alle Eier hoben nach Samenzusatz gleich die Membran ab. Um 6 Uhr 25 Minuten waren fast alle Eier der Kontrolle, die kurz darauf befruchtet worden waren, viergeteilt, hingegen waren die Eier des Methylenblauexperiments zur selben Zeit noch grösstenteils zweigeteilt, vereinzelte nur viergeteilt und eine etwas grössere Anzahl dreigeteilt. Am 13. waren in der Kontrolle zahlreiche normale Blastulae mit beginnender Gastrulation vorhanden, während in der Methylenblauzucht viele Stereoblastulae mit beginnendem Zerfall den Boden bedeckten und nur vereinzelte Stereoblastulae noch an der Oberfläche flottierten. Am 14. war bereits alles bis auf wenige trübe Larven zerfallen, während sich in der Kontrolle nur helle normale Gastrulae befanden.

Die Verzögerung und die Störung der ersten Teilungen war manchmal eine recht erhebliche. So zeigten uns z. B. in einem Versuch vom 13. April (3 stündige Einwirkung einer 0,1proz. Methylenblaulösung) die Eier nach 2 Stunden folgendes Entwicklungsbild: Während die Kontrolle normal zweigeteilt war, befand sich erst die kleinere Hälfte der Eier des Methylenblauversuches in der ersten Teilung, der Rest liess noch den bläschenförmigen Kern erkennen, bei einigen Eiern war Knospenfurchung aufgetreten. Nach 4 Stunden — die Kontrolle war vier- und achtgeteilt — waren in den Methylenblauzuchten nur wenige Eier viergeteilt, etwa 50 % noch zweigeteilt, die anderen zum

grossen Teil noch immer ungefurcht und einige in drei Blastomeren zerfallen. Diese dreigeteilten Eier unterschieden sich von den durch Polyspermie entstehenden Simultandreiern durch die ungleiche Grösse ihrer Furchungszellen. Sie waren aus einer grossen und zwei kleineren Blastomeren zusammengesetzt und durch verzögerte Furchung der einen Zelle des zweigeteilten Eies entstanden. — Am nächsten Tage waren auch in dieser Zucht nur Stereoblastulae zu finden.

Dieses typische Erkrankungsbild, Verzögerung und Unregelmässigkeit der Teilungen, Bildung von Stereoblastulae und Stereogastrulae mit folgendem Zerfall, erhielten wir fast immer nach Behandlung des Samens mit Methylenblau während 2, 3, $5\frac{1}{2}$, 6 und auch 8 Stunden. Allerdings fanden wir häufig, besonders nach 6—8 stündiger Einwirkung eine nicht unbeträchtliche Zahl normaler oder wenigstens fast normaler Larven in den Kulturen.

In der Hoffnung, eine noch intensivere Schädigung des Spermachromatins hervorzurufen und dadurch vielleicht parthenogenetische Larven zu erzielen, liessen wir die Spermien auch für 16—18 Stunden in den Lösungen. Häufig waren nach dieser Zeit alle Spermien abgestorben. Dieses Absterben war zwar nicht immer auf die Methylenblauwirkung zurückzuführen, da nicht selten auch der ebenso lange aufgehobene Kontrollsamen vollkommen bewegungslos war. Der Samen verschiedener Tiere erwies sich als ungleich empfindlich gegen das Aufheben. In anderen Fällen war jedoch der Kontrollsamen noch gut beweglich und nur der Methylenblausamen war abgestorben, ein Resultat, das sicher von der Methylenblauwirkung herrührt. In 15 Fällen fanden wir aber neben vielen starren Samenfäden noch eine grössere Anzahl gut beweglicher Spermien vor, so dass wir noch ein gutes Befruchtungsergebnis, manchmal mit Hilfe von Alkoholzusatz, erzielen.

Wir konnten auch bei diesen Versuchen stets eine Verzögerung von etwa einer halben Stunde bei den ersten Teilungen wahrnehmen. Wir beobachteten aber keine Knospenfurchung und nur ganz vereinzelt pathologisch geteilte Eier. Die weitere Entwicklung der Zuchten verlief, im Gegensatz zu den kurzen Methylenblauversuchen, bei den meisten Eiern normal. Neben einigen zerfallenen Eiern, Stereogastrulae, trüben Prismen und Plutei fanden wir in 13 Versuchen die bei weitem grössere An-

zahl der Eier zu normalen Plutei entwickelt, so dass sich die Methylenblauzuchten kaum von den Kontrollen unterschieden.

Wir glaubten zuerst annehmen zu müssen, dass die ganz und fast normalen Plutei durch Parthenogenese entstanden wären. Wir hielten das Spermachromatin durch die lang anhaltende Methylenblauwirkung für so stark geschädigt, dass es bei der Entwicklung vollkommen ausgeschaltet wurde; die Verzögerung bei der ersten Teilung schien uns einen derartigen Vorgang zu bestätigen.

Zweifel an der Richtigkeit unserer Annahmen erhoben sich, als wir die Plutei näher untersuchten. Sie zeigten in bezug auf Grösse und Ausbildung keinen Unterschied von den normalen Plutei. Auch stellten wir die gleiche Grösse ihrer Kerne durch Messungen fest. Es lagen also sicherlich keine haploiden, parthenogenetischen Larven vor. Die normale Grösse der Kerne könnte man nur durch Monasterbildung erklären; es schien uns aber unwahrscheinlich, dass Monaster in einer so grossen Anzahl von Eiern regelmässig gebildet würden. — Ferner sprach gegen die parthenogenetische Entstehung der Umstand, dass es durch Radiumbestrahlung nicht gelungen war, bei Seeigeln das väterliche Chromatin von der Entwicklung ganz auszuschalten. Stets verschmolz, wie G. Hertwig zeigte, das Radiumchromatin mit den mütterlichen Kernen, anders wie bei Frosch und Fischen, wo die Ausschaltung eine viel vollkommenere war. — Die Hypothese einer parthenogenetischen Entwicklung wurde aber noch unwahrscheinlicher, als wir auf Schnitten durch zwei- und ungeteilte Eier dieser Serien kein ausgeschaltetes Spermachromatin entdecken konnten. Die Eier zeigten entweder normale ruhende Kerne oder Mitosen mit schätzungsweiser normaler Chromosomenzahl.

Diese Überlegungen zwangen uns zu der Annahme, dass die Samenfäden, welche die sich normal entwickelnden Eier befruchteten, durch 16—18stündige Methylenblaubehandlung nicht geschädigt wurden. Da aber diese Annahme nicht recht mit der bei den Versuchen mit kürzerer Einwirkungsdauer konstatierten Schädigung im Einklang stand, stellten wir noch einen Versuch an zur definitiven Entscheidung der Frage: liegt Ausschaltung des Spermachromatins oder gar keine Schädigung vor?

Wir bestrahlten einen Teil des Spermas, das sich 16 Stunden in einer 0,2proz. Methylenblaulösung befunden hatte, auch noch

eine halbe Stunde mit Mesothorium. Während sich die mit Methylenblausperma befruchteten Eier zum grössten Teil gut entwickelten, waren in der Zucht, die mit dem bestrahlten Samen befruchtet war, schon am nächsten Tage nur Zerfall und Stereoblastulae vorhanden und einen Tag später war alles abgestorben.

Dieser Versuch entschied also zu Gunsten der Annahme, dass das väterliche Chromatin durch die vorübergehende Methylenblaubehandlung nicht zur Ausschaltung gebracht worden war; denn wäre dies der Fall gewesen, so hätte die Bestrahlung mit Mesothorium selbstverständlich keinen Einfluss auf die Entwicklung der Eier mehr haben können.

Wie schon anfangs bemerkt, fielen die Versuche nicht immer gleichmässig aus. Unter 15 Versuchen mit langer Methylenblaubehandlung von Strongyocentrotussamen ergaben zwei, dass die Eier sich nicht über die Gastrula hinaus entwickelten. Sphaerechinussamen wurde nur in vier Versuchen langer Methylenblauwirkung ausgesetzt, die Eier entwickelten sich bis zur Blastula normal, gastrulierten dann aber zum grössten Teil nicht und lieferten nur wenige Prismen. Immerhin verlief auch beim Sphaerechinus die Entwicklung bei etwa 5stündiger Methylenblaubehandlung weit schlechter als wie nach 16—18 stündiger Einwirkung.

Die aus den oben ausgeführten Versuchen über Methylenblauwirkung auf Seeigelsamen gewonnenen Resultate lassen sich dahin zusammenfassen:

1. Methylenblaulösungen können schädigend auf das Sperma-chromatin wirken, wie die Entwicklungsstörungen in den mit Methylenblausamen befruchteten Zuchten zeigen.
2. Nicht alle zur Befruchtung gelangenden Spermien sind gleich schwer geschädigt.
3. Nach 4—5 stündiger Methylenblaubehandlung ist die Entwicklung bei der grössten Anzahl der Eier gestört. Unter 2 Stunden ist keine Schädigung festzustellen, ebenso sind die Spermien, die nach 15—18 stündiger Methylenblaubehandlung noch zur Befruchtung gelangen, zum grössten Teil nicht geschädigt. —

Eine Erklärung für dieses sonderbare Verhalten der Spermien werden wir im allgemeinen Teil zu geben versuchen.

B. Zytologische Untersuchungen über das Schicksal des durch Methylenblau geschädigten Spermachromatins in Seeigeleiern.

Es erschien uns wünschenswert, die aus den Experimenten gewonnenen Resultate noch durch eingehendere zytologische Untersuchung des Materials zu bestätigen. Zu diesem Zweck konservierten wir Eier von *Strongylocentrotus* während der ersten Entwicklungsstadien mit Pikrin-Essigsäure. Die Eier wurden in Paraffin eingebettet, in 10 μ dicke Schnitte zerlegt und nach Heidenhain mit Eisenalaun-Hämatoxylin gefärbt.

Die cytologischen Untersuchungen stimmen in ihrem Ergebnis mit den Resultaten der Versuche überein. Präparate von Eiern, die den vorher beschriebenen 2—3 stündigen Methylenblauversuchen angehören, zeigen uns stark veränderte Kernfiguren. Zwei Stunden nach der Befruchtung fixierte Eier besitzen noch zum grossen Teil bläschenförmige, runde oder auch etwas gestreckte Kerne, an deren Enden Strahlungen auftreten. In diesen Kernen sind öfters grössere Nukleolen und Chromatinklumpen, die wohl auf die pathologische Natur des väterlichen Chromatins hindeuten, wahrzunehmen. Das Vorhandensein von nur einem Kern in den ungeteilten Eiern beweist uns, dass das Spermachromatin noch mit dem Eikern zu einem einheitlichen Gebilde verschmolzen ist. — In anderen Eiern derselben Präparate sind bereits Teilungsfiguren zu sehen. Meistens liegt dann, wie es die Fig. 1—3 und 5 (Taf. XII) zeigen, ein kompakter, intensiv sich färbender Chromatinklumpen neben den Chromosomen. Wir haben es hier sicher mit dem geschädigten Spermakern zu tun; denn die Zahl der Chromosomen in diesen Mitosen beträgt nicht mehr als die haploide Zahl, wie durch Zählungen schätzungsweise festgestellt wurde. Besonders deutlich ist die reduzierte Chromosomenzahl auf Fig. 5 zu erkennen, die eine Aufsicht auf den Mutterstern in einer zur Schnittebene schräg gestellten Spindel zeigt.

Die mütterlichen Chromosomen bleiben aber nicht unberührt von dem Einfluss des Spermachromatins. Häufig sind sie etwas verklumpt, auch werden sie öfters aus ihrer normalen Lage abgedrängt, wie uns Fig. 3 zeigt. Neben schon nahe am Pol liegenden Chromosomen sehen wir andere, die sich noch nahe der Äquatorialebene der Spindel befinden. — Folgestadien derartiger Mitosen haben wir wohl in den Textfig. 4 und 5 und

in Fig. 6 (Taf. XII) zu erblicken. Derartige zweigeteilte Eier treffen wir bereits in dem nach 2 Stunden fixierten Material an, in grösserer Anzahl aber erst 3 Stunden nach der Befruchtung.



Fig. 4.

Wir sehen auf den genannten Figuren zweigeteilte Eier, die in jeder Blastomere einen bläschenförmigen Kern enthalten, der häufig schon die Vorbereitung zur Vierteilung durch das



Fig. 5.

Auftreten von Strahlungsfiguren erkennen lässt. Die beiden Kerne sind aber noch untereinander durch eine mehr oder weniger breite Brücke verbunden, die am breiteren Ende noch dieselbe

Struktur wie der Kern zeigt, dann aber in eine mehr strangförmige Bildung mit intensiv sich färbenden verklumpten Chromatinbrocken übergeht.

Es unterliegt keinem Zweifel, dass diese Fortsätze unter dem Einfluss der Methylenblaubehandlung entstanden sind; denn in keiner Kontrolle sahen wir ähnliche Figuren. Sie bestehen wahrscheinlich zum grössten Teil aus dem in die Länge gezogenen und etwas aufgelockerten Spermakern. Daneben tragen Reste der achromatischen Figur und wohl auch noch in Mitteleidenschaft gezogene mütterliche Chromosomen zur Bildung der Fortsätze bei. Dies wird besonders da der Fall sein, wo die Brücke zwischen den beiden Kernen ziemlich breit ist, wie etwa in Textfig. 5. — In der Teilungsebene, wo die Fortsätze beider Kerne verjüngt aneinanderstossen, ist in den meisten Eiern ein kompakter kleiner Körper zu erkennen (Textfig. 4, 5 und Fig. 6—8), der wohl identisch mit dem Flemmingschen Zwischenkörper ist. Ein derartiges Gebilde ist auch von Boveri öfters abgebildet worden; auch fanden wir es in unseren Kontrollpräparaten, wenn auch weder so häufig noch so deutlich. Da dieser Flemmingsche Zwischenkörper wahrscheinlich aus Resten der achromatischen Substanz gebildet wird, so ist es ganz gut möglich, dass er in den Methylenblau-eiern länger erhalten bleibt, da die achromatische Figur überhaupt von den pathologischen Vorgängen stark beeinflusst wird, wie uns die Fortsatzbildung der Kerne zeigt. Es ist jedenfalls von Interesse, dass sich dieser Körper stets an der Berührungsstelle beider Fortsätze befindet. Auch wo diese, wie in Textfig. 4, wohl von der Plasmateilung beeinflusst, weit von der Mittellinie des Eies abgedrängt sind, ist der Zwischenkörper mitgerückt und befindet sich wieder an der Berührungsstelle.

Bei einigen Eiern ist der Fortsatz nur in der einen Blastomere entwickelt (Fig. 7 und 8). Der Umstand, dass das Methylenblauchromatin nur in der einen Eihälfte liegt, äussert sich in einem ungleichen Entwicklungstempo der beiden Blastomeren. So sehen wir auf der einen Seite noch den blaschenförmigen, etwas gestreckten Kern mit seinen beiden Strahlungen und einem Fortsatz, der bis zur Teilungsebene reicht und an dessen Ende wieder der Zwischenkörper liegt. In der anderen Eihälfte ist in Fig. 7 bereits eine Spindel mit Chromosomen, in Fig. 8 sogar schon die Bildung zweier Tochterkerne zu erkennen. Solche

Eier würden sich bald in eine grosse und zwei kleinere Blastomeren teilen, Bildungen, deren Auftreten wir vorhin erwähnten.

Auf Präparaten, die $3\frac{1}{2}$ Stunden nach der Befruchtung fixiert wurden, hat die Zahl der zwei- und dreigeteilten Eier zugenommen, andere sind viergeteilt und zeigen bläschenförmige Kerne, von denen ein oder manchmal auch zwei Paar durch Fortsätze verbunden sind. Daneben sind aber noch eine Anzahl ungeteilter Eier vorhanden, deren Kernverhältnisse in Fig. 4 und Textfig. 6 abgebildet



Fig. 6.

sind. Wir sehen (Fig. 4) einen sehr in die Länge gezogenen stäbchenförmigen Kern mit Strahlungen an seinen beiden Enden. Häufig ist eine eigentliche Kernmembran nicht mehr vorhanden. Diese Kerne sind wohl in Vorbereitung zur Amitose begriffen. Amitosenähnliche Bilder wie sie uns Textfig. 6 darstellt, treffen wir in denselben Präparaten häufiger an. Es hat hier augenscheinlich eine Durchschnürung der langgestreckten Kerne ohne vorhergehende Chromosomenbildung stattgefunden. Die stark pathologische Natur dieser Eier zeigt sich auch darin, dass die Plasmateilung noch nicht auftrat, trotzdem an den Kernen bereits die Strahlung zur nächsten Teilung zu erkennen ist. — Von solchen Eiern ist zu erwarten, dass sie sehr früh absterben und zerfallen.

Schon vorher wurde erwähnt, dass bei der Untersuchung von Eiern der 16—18 stündigen Methylenblauversuche keine pathologischen Kernfiguren gefunden wurden. Wir hielten es trotzdem für wünschenswert, diese Beobachtung durch eine eingehende Untersuchung sicher zu stellen und fixierten daher von einem

Versuch (17 Stunden Methylenblauwirkung in 0,1proz. Lösung auf den Samen) Eier in Zeitintervallen von 15 Minuten. Ebenfalls wurden Kontrolleier eingelegt, um durch den Vergleich einen Einblick in die Ursachen zu erhalten, durch welche die bei den Methylenblauversuchen von langer Dauer stets zu beobachtende Verzögerung entsteht.

Die zuerst fixierten Eier, sowohl im Methylenblauversuch wie in der Kontrolle, zeigen, eine viertel Stunde nach der Befruchtung, die beiden Vorkerne verschmolzen. Doch finden wir in beiden Präparaten noch Eier, in denen der Samenkern den Eikern erst berührt oder sogar noch in einiger Entfernung liegt. 15 Minuten später ist die Verschmelzung in beiden Eiportionen eine vollkommene, an einzelnen Kernen treten bereits Strahlungen auf. Dreiviertel Stunden nach der Befruchtung hat sich das Bild wenig geändert, nur die Strahlungen sind etwas deutlicher geworden und die Kerne haben sich zum grossen Teil mehr in die Länge gestreckt. Auf demselben Stadium treffen wir auch noch die Methylenblau Eier 15 Minuten später an, während zu der gleichen Zeit in den meisten Kontrolleiern die Karyokinese begonnen hat. Von diesem Zeitpunkt an bleibt die Verzögerung deutlich. So sehen wir eine viertel Stunde später die meisten Kontrolleier zweigeteilt mit ruhenden Kernen, daneben zahlreiche Mitosen und nur ein geringer Prozentsatz lässt noch den ruhenden Kern im ungeteilten Ei erkennen. In dem Methylenblauversuch hingegen zeigen noch immer die meisten Eier ovale Kerne, nur ein Drittel fertig gebildete Spindeln. Nach $1\frac{1}{4}$ Stunde sind die Kontrolleier nahezu alle zweigeteilt, während wir noch nach $1\frac{3}{4}$ Stunde im Methylenblauversuch zahlreiche Mitosen und sogar noch einige ruhende Kerne in ungeteilten Eiern sehen.

Diese Verzögerung ist aber auch der einzige unterscheidende Punkt. Pathologische Kernfiguren fanden wir nicht oder nur ganz vereinzelt vor. Wir können daher unser Resultat, dass die nach langer Methylenblauwirkung noch zur Befruchtung gelangenden Spermien nicht geschädigt sind, durch die zytologische Untersuchung als bestätigt betrachten. — Über die Ursachen der verzögerten Teilung, die anfangs einen so grossen Unterschied zwischen Versuchs- und Kontrollkulturen bildet, ohne jedoch einen Einfluss auf die spätere Entwicklung auszuüben, wird im allgemeinen Teil noch gesprochen werden.

Teilungsstörungen von Seeigeleiern mit darauf folgendem abnormem Entwicklungsverlauf haben bereits öfters den Gegenstand zytologischer Untersuchungen gebildet. Die pathologische Entwicklung wurde auf die verschiedenartigste Weise hervorgerufen: durch Bastardierung der Seeigeleier mit artfremdem Sperma von Loeb, Kupelwieser und Baltzer, durch Bestrahlung der Samenfäden mit Radium von G. Hertwig, ferner durch Behandlung von Echinideneiern mit hypertonischen Lösungen von Gray und Konopacki oder durch Kältewirkung von Janina Bury. Bei einem Vergleich dieser Arbeiten tritt eine grosse Ähnlichkeit der pathologischen Kernfiguren zutage, so verschiedenartig die Ursache zur Entwicklungsstörung auch gewesen sein mag.

Die grösste Analogie mit unseren Methylenblauversuchen weist G. Hertwigs Arbeit über das Schicksal des mit Radium bestrahlten Spermachromatins im Seeigelei auf, handelt es sich doch in beiden Arbeiten um eine alleinige Schädigung des väterlichen Chromatins. So sind z. B. die Fig. 2—8 G. Hertwigs ohne weiteres mit den Fig. 1—3 unserer Arbeit vergleichbar: nur liegt häufig der durch Radium geschädigte Samenkern in etwas grösserer Entfernung von den mütterlichen Chromosomen, ein Umstand, der wohl auf eine intensivere Schädigung durch das Radium hindeutet. Doch finden wir auch andere Bilder (Fig. 6—8) vor, wo das Spermachromatin wie in unseren Abbildungen in unmittelbarer Nähe der mütterlichen Chromosomen liegt, und sein Einfluss auf dieselben wie bei Fig. 3 unverkennbar ist.

Der Tatsache gemäss, dass das Radiumchromatin wegen seiner isolierten Lage häufig keinen störenden Einfluss auf die erste Teilung ausübt, finden wir den Spermakern noch häufig unverändert oder nur wenig aufgelockert im zweigeteilten Ei (Fig. 10, 11), Bilder, die bei unseren Methylenblauversuchen fehlen. Dagegen kann man aus der Ähnlichkeit der Abbildung 13 mit unseren Fig. 6—8 auf eine gleiche Entstehungsweise schliessen. Auch bei G. Hertwig sehen wir ein zweigeteiltes Ei mit Spindeln für die nächste Teilung, die noch durch Stränge „von kompaktem Chromatin, einzelnen Chromatinkörnern und Chromosomen verbunden sind“. — Ferner finden sich auch in der Radiumarbeit Kerne in Vorbereitung zur Amitose und amitosenähnliche Bilder (Fig. 21—24) vor, Figuren, die ganz unseren Abbildungen (Fig. 4 und 6) entsprechen.

Da bereits G. Hertwig in seiner Arbeit den Vergleich mit den Arbeiten von Herbst, Boveri und Baltzer gezogen hat, soll hier nur noch auf die Berührungspunkte mit den Arbeiten von Gray, Konopacki und J. Bury hingewiesen werden.

Die in diesen Arbeiten durch Kälteeinwirkung auf unbefruchtete und befruchtete Seeigeleier oder durch den Einfluss von hypertonischen Lösungen auf befruchtete Echinideneier hervorgerufene Schädigung des Chromatins äussert sich häufig während der ersten Teilung durch mangelhafte Chromosomenausbildung, ebenso wie in unserer Arbeit das Spermachromatin durch die Methylenblaubehandlung die Fähigkeit, Chromosomen zu bilden, verloren hat. So finden wir je nach dem Grade der Schädigung Mitosen mit stark angeschwollenen Chromosomen (Bury, Fig. 31—35) oder mit Chromatinklumpen (Gray, Fig. 18—23), deren Entstehung der Autor durch Verklumpung mehrerer Chromosomen erklärt. Diese Erkrankung eines Teils des Chromatins führt zu Kernfiguren, die man nach Haecker als Pseudoamitose bezeichnen kann, wie sie Bury in Fig. 38a—c und Konopacki in Fig. 31—36 darstellen, Abbildungen, die unserer Fig. 6 und den Textfig. 4—6 im höchsten Grade ähnlich sind.

Ferner finden wir in den genannten Arbeiten Abbildungen von typischen Amitosen. (Gray, Fig. 49, Bury, Fig. 12—13). In diesen Fällen liegt eine Erkrankung des gesamten Kernmaterials vor, die bei Konopacki und Gray durch direkte Beeinflussung der ganzen Chromatinmenge, bei Bury und in den Methylenblauversuchen nur mittelst Schädigung der einen Kernkomponente und Vergiftung des gesunden Chromatins durch die erkrankte Kernmasse hervorgerufen wurde. — Die Folge dieser Erkrankung ist die Unfähigkeit, Chromosomen zu bilden: die Kernteilung kann daher nur durch Amitose erfolgen. Charakteristisch für alle in diesen Arbeiten gegebenen Abbildungen ist auch die starke Vergrösserung der Kernvolumina, die mit der verzögerten Teilung zusammenhängt und auch zu einer Vermehrung der Nukleolarsubstanz in den Kernen führt.

C. Allgemeiner Teil.

Durch unsere Untersuchungen an den Vertretern verschiedener Tierspezies haben wir in Bestätigung der Resultate von O. Hertwig an *Rana fusca* feststellen können, dass die Kernsubstanz der reifen

Samenfäden durch verschiedene chemische Stoffe geschädigt werden kann, ohne dass die Spermatozoen ihre Beweglichkeit und ihre Fähigkeit, in das Ei einzudringen, dabei verlieren. Diese Schädigung der Kernsubstanz kann in manchen Fällen eine so grosse sein, dass das Spermachromatin im Ei nicht mehr Chromosomen bilden kann, vielmehr völlig vermehrungsunfähig geworden ist. In diesem Falle gestaltet sich die Entwicklung der Eier, wie unsere Bastardierungsexperimente am Frosch ergeben haben, zu einer parthenogenetischen, da ja nur der Eikern durch seine Teilungen den Kernapparat des Embryos liefert. Geringere Schädigung der Kernsubstanz der Samenfäden durch Chemikalien hebt ihre Vermehrungsfähigkeit nicht auf; da jedoch das chemisch veränderte väterliche Chromatin auf alle Embryonalzellen verteilt wird, führt diese Schädigung schon auf frühen Entwicklungsstadien zum Absterben des Embryos, der dabei allerlei Missbildungen, wie namentlich Spina bifida, aufweist.

Es lassen sich somit durch chemisch geschädigte Samenfäden dieselben Missbildungen erzielen, wie sie O. Hertwig durch Radiumbestrahlung der männlichen Keimzellen erhielt. Dies Resultat ist für den Fall, dass der Samenkern maximal geschädigt ist, nicht überraschend; denn es ist ja bei der auf parthenogenetischer Grundlage verlaufenden Entwicklung des Eies ganz gleichgültig, ob das Chromatin des Spermakopfes durch chemische oder physikalische Mittel vermehrungsunfähig geworden ist. Die Störungen in der Entwicklung dieser Eier, wie Bauchwassersucht und zwerghafter Wuchs, lassen sich, wie G. Hertwig wahrscheinlich gemacht hat, auf die haploide Beschaffenheit des Kernapparates zurückführen.

Auffallender ist dagegen die Übereinstimmung der Resultate auch in Versuchen, bei denen das Spermachromatin weniger stark geschädigt und infolgedessen noch an der Bildung des Kernapparates sich beteiligt. Trotzdem die ursprünglichen Schädigungen, die der Samenkern einmal durch die chemische Behandlung, das andere Mal durch die Radiumbestrahlung erlitten hat, sicher nicht die gleichen sind, und durch die Verbindung mit Methylenblau oder mit Chloralhydrat ganz andere chemische Veränderungen als durch das Radium erzielt werden, so stimmen die Missbildungen, welche die mit diesen chemisch oder physikalisch geschädigten Spermatozoen befruchteten Eier zeigen, doch ausserordentlich untereinander überein.

Zum besseren Verständnis dieser Erscheinung müssen wir uns vergegenwärtigen, dass die Reaktionsmöglichkeiten eines Organismus gegen Schädlichkeiten aller Art nur ganz begrenzte sind, und dass es ganz bestimmte Typen von Missbildungen gibt, die durch Eingriffe verschiedenster Art an dem Embryo auftreten. So lässt sich die Spina bifida beim Frosch nicht nur durch Befruchtung normaler Eier mit krankem Sperma, sondern auch durch Mehrfachbefruchtung oder durch Einwirken von Kochsalzlösung auf die Eier nach der Befruchtung erzielen. Ein anderes Beispiel für diese soeben besprochene Erscheinung haben wir ferner im zytologischen Teil unserer Arbeit kennen gelernt, wo gezeigt wurde, dass genau die gleichen Bilder amitotischer und pseudoamitotischer Kernteilung, wie sie durch Behandlung befruchteter Seeigeleier mit hypertonen Lösungen oder mit auf 0° abgekühltem Meerwasser, auch durch Befruchtung normaler Eier in gewöhnlichem Seewasser mit Sperma, das 2 Stunden mit Methylenblau vorbehandelt oder 12 Stunden mit Radium bestrahlt war, erzielt werden konnten.

Ergibt sich somit, wenn wir die Einwirkung der chemisch oder physikalisch geschädigten Samenfäden auf gesunde Eier studieren, eine weitgehende Übereinstimmung zwischen den chemischen und den Radiumexperimenten, so treten andererseits auffallende Unterschiede zwischen den beiden genannten Arten von Versuchen zutage, sobald wir das Verhalten der Spermatozoen den chemischen oder dem physikalischen Agens gegenüber betrachten. Denn während bei allen bisher untersuchten Tierarten sämtliche Samenfäden durch das Radium proportional der Intensität der Bestrahlung in zunehmendem Maße geschädigt werden, vermissen wir diese gleichmässige Wirkung bei den chemischen Versuchen völlig. Unsere Experimente haben vielmehr ergeben, dass die einzelnen Samenfäden eine verschieden grosse Resistenz oder, wie wir auch sagen können, eine ungleiche Empfindlichkeit gegen die chemischen Stoffe besitzen. Hierbei können wir folgende Fälle unterscheiden:

1. Die Samenfäden von verschiedenen Tierarten zeigen in ihrer Empfindlichkeit gegenüber demselben chemischen Stoffe erhebliche Unterschiede. So kann z. B. durch Chloralhydrat und Strychnin die Kernsubstanz der Froschspermatozoen geschädigt werden, während beim Seeigel eine derartige Beeinflussung selbst bei höher konzentrierten Lösungen ausbleibt.

2. Auch bei Verwendung der Samenflüssigkeit von zwei verschiedenen Männchen, die der gleichen Art angehören, ergeben sich oft Differenzen in der Empfindlichkeit gegenüber dem gleichen chemischen Mittel. Besonders beweisend sind hierfür die Versuche, die von uns mit Strychnin bei *Rana fusca* ausgeführt wurden, und die sämtlich ein negatives Resultat ergaben, während O. Hertwig in zwei Versuchen an *Rana fusca* eine starke Schädigung des Spermachromatins durch das Strychnin konstatieren konnte. Zu demselben Ergebnis führten ferner die im zweiten Teil unserer Arbeit erwähnten Experimente an Gobiussamen mit Methylenblau, wo in zwei Fällen eine starke Veränderung des Spermachromatins festgestellt wurde, einmal dagegen das chemische Mittel völlig versagte.

3. Eine verschieden grosse Empfindlichkeit gegen das gleiche chemische Mittel lässt sich schliesslich auch bei den einzelnen Samenfäden, die aus dem gleichen Hoden desselben Tieres stammen, nachweisen. Sehr oft haben wir nämlich in unseren Experimenten beobachten können, dass, während die überwiegende Mehrzahl der Eier, die mit chemisch vorbehandeltem Sperma befruchtet waren, sich pathologisch entwickelte, ein anderer Teil normale Embryonen lieferte, so z. B. bei den Methylenblauversuchen mit Gobiussamen, bei den Bastardierungsversuchen beim Frosch mit Benutzung von Chloralhydrat und den zweistündigen Methylenblauexperimenten am Seeigel. Auch O. Hertwig hat ähnliche Beobachtungen gemacht, hält es aber, da er in seinen Versuchen die Froschhoden direkt in der Methylenblaulösung zerzupft hat, für möglich, dass einzelne Spermatozoen, die im Inneren grösserer Gewebstücke lagen, gar nicht mit dem Methylenblau in Berührung gekommen sind. Diese Erklärungsmöglichkeit lässt sich aber bei unserer Versuchsanordnung, bei der nur die aus dem fein zerzupften Hoden abgesaugte Samenmilch zur Verwendung kam, ausschliessen.

Auf Grund dieser Ergebnisse sind wir nunmehr auch in der Lage, für ein Versuchsergebnis, das uns anfangs ganz unverständlich schien, die Erklärung zu geben. Wir haben im speziellen Teil unserer Arbeit berichtet, dass durch zweistündige Behandlung der Samenflüssigkeit vom Seeigel mit Methylenblau eine deutliche Schädigung der meisten Spermien erzielt werden konnte, die eine stark pathologische Entwicklung der mit ihnen befruchteten

Eier zur Folge hatte. Als wir jedoch das Methylenblau 16 bis 18 Stunden auf die Samenflüssigkeit einwirken liessen, gestaltete sich das Resultat, wie wir in 15 Versuchen an zehn verschiedenen Tieren feststellen konnten, ganz anders. Die Eier entwickelten sich nämlich ganz normal zu Plutei und die zytologische Untersuchung ergab, dass der Spermakern sich normalerweise an der Chromosomenbildung beteiligte, so dass keine Parthenogenese, wie wir anfänglich vermuteten, vorlag.

Man könnte zunächst daran denken, dass wir gerade zu den Versuchen mit langer Einwirkungszeit Samenfäden von Tieren benutzt hätten, die sämtlich gegen das Methylenblau unempfindlich waren, entsprechend den soeben sub 2 angeführten Beispielen. Wäre es aber nicht ein höchst sonderbarer Zufall gewesen, dass wir gerade in den 15 Experimenten mit langer Einwirkungszeit Tiere mit methylenblaufesten Spermien benutzt hätten, während wir bei unseren zweistündigen Versuchen nur einmal unter zehn Fällen keine Einwirkung des Methylenblau konstatieren konnten? Ein solches Zusammentreffen erscheint uns sehr unwahrscheinlich und wir glauben durch die folgende Annahme das Versuchsergebnis besser erklären zu können:

Infolge der 18stündigen Methylenblauwirkung sind alle Samenfäden, deren Kern durch das Methylenblau geschädigt ist, abgestorben; nur diejenigen Spermatozoen, deren Kernsubstanz gegen das Methylenblau unempfindlich ist, bleiben am Leben und befruchten die Eier, die sich infolgedessen normal entwickeln. Es hat also durch die lange Methylenblaubehandlung eine Selektion der methylenblaufesten Samenfäden stattgefunden.

Dass Samenfäden, deren Kernapparat intensiv geschädigt ist, schliesslich auch bewegungslos und zur Befruchtung untauglich werden, das haben uns die Radium- und Methylenblauexperimente an *Rana fusca* gelehrt, bei denen stets die zum Versuch benutzten Spermatozoen viel früher abstarben als der Kontrollsame. Besonders schön zeigt aber der folgende Versuch, über den O. Hertwig berichtet, dass nicht etwa die direkte Wirkung des chemischen Stoffes auf den Bewegungsapparat, sondern vielmehr die durch das chemische Mittel bewirkte Veränderung des Kernes die Geisselbewegung des Spermatozoons zum Stillstand bringt: In zwei Experimenten wurde die Samenmilch von zwei

verschiedenen Froschmännchen zu gleichen Teilen mit einer 0,25proz. Strychninlösung versetzt. Nach je 2 Stunden wurde mit einem Teil der so bereiteten Mischungen eine Portion Eier befruchtet. Im ersten Versuch nahm die Entwicklung der Eier einen sehr gestörten Verlauf, in den anderen dagegen verlief sie bei den meisten Eiern normal. In dem ersten Fall waren also die Samenfäden des einen Männchens durch das Strychnin stark geschädigt, im zweiten dagegen die Samenfäden des anderen meist unverändert geblieben. Entsprechend dieser verschiedenen grossen Empfindlichkeit der Kernsubstanz der Samenfäden gegen das Strychnin kam die Bewegung der Spermatozoen in dem ersten Samengemisch schon nach $5\frac{1}{2}$ Stunden zum Stillstand, während sie in der zweiten Samenmischung noch über 24 Stunden anhielt.

Sehen wir es hiernach als erwiesen an, dass Samenfäden, deren Kernsubstanz durch äussere Eingriffe geschädigt ist, rascher absterben als solche mit intaktem Kernapparat, so ist die Selektion der methylenblaufesten Spermatozoen bei unseren 18stündigen Methylenblauversuchen nicht mehr wunderbar und erklärt auf beste unsere Versuchsergebnisse. Sind natürlich gar keine oder nur ganz vereinzelte methylenblaufeste Spermatozoen in einem Samengemisch vorhanden, so sind nach 18 Stunden alle Samenfäden abgestorben, wie wir es auch einige Male beobachtet haben. Beträgt dagegen der Prozentsatz der methylenblaufesten Samenfäden auch nur wenige Prozente, so werden bei der grossen Anzahl der zu einem Experiment benutzten Samenfäden stets noch genügend nach 18 Stunden am Leben sein, um die Befruchtung vollziehen zu können. Tatsächlich haben wir ja bei unseren Experimenten beobachten können, dass stets bei den langen Methylenblauversuchen eine grosse Anzahl Samenfäden abgestorben und nur ein geringer Bruchteil beweglich geblieben war und die Befruchtung vollzog.

Schliesslich sei noch mit einigen Worten auf die Beobachtung eingegangen, dass bei den Eiern, die durch den 18 Stunden lang mit Methylenblau vorbehandelten Samen befruchtet waren, die erste Teilung stets gegenüber gleichzeitig befruchteten Kontrolleiern erheblich verzögert war. Man könnte wohl daran denken, dass die lange Berührung mit dem Methylenblau doch nicht ganz ohne Einfluss selbst auf die der Wirkung schwer zugänglichen „methylen-

blaufesten“ Spermatozoen geblieben ist. Möglich ist aber auch, dass für diese Erscheinung die Selektion gewisser Samenfäden verantwortlich gemacht werden kann, die neben ihrer Methylenblaufestigkeit zugleich auch noch die Eigenschaft besitzen, dass unter ihrem Einfluss das Ei sich langsamer teilt. Wenn wir bei einer normalen Befruchtung von Seeigeleiern ihre Teilungszeit beobachten, so werden wir stets konstatieren können, dass die Zweiteilung nicht bei allen Eiern simultan erfolgt, sondern dass, obgleich die Samenfäden fast gleichzeitig in die Eier eingedrungen sind, das eine Ei sich rascher, das andere langsamer teilt. Sicher ist nun für das Furchungstempo die Beschaffenheit des Eies von grosser Bedeutung, aber auch das Spermatozoon ist nicht ganz ohne Einfluss, wie einmal die Bastardierungsversuche von Newman, vor allem aber die Versuche mit Seeigelsamen, der durch Radium oder Methylenblau geschädigt war, deutlich gezeigt haben. Es ist also wohl möglich, dass bei unseren langen Methylenblauversuchen gerade diejenigen Spermatozoen, die normalerweise auf die Eiteilung verzögernd einwirken, sich gegen die Methylenblauwirkung resistent erwiesen haben. So wäre es z. B. denkbar, dass die besondere Beschaffenheit der Schutzhülle, die den Spermakopf der methylenblaufesten Samenfäden gegen die Giftwirkung schützt, gleichzeitig auch das Aufquellen des Spermakopfes im Eiplasma und seine Umwandlung in den Spermakern verzögert und somit zu der verspäteten Teilung des Eies beiträgt. Jedoch können wir hierüber vorläufig nur Vermutungen äussern, zumal wir ja auch noch nicht einmal sicher wissen, ob die Giftfestigkeit einzelner Spermatozoen auf einer besonderen Beschaffenheit der ihren Kopfteil umgebenden Rindensubstanz beruht, oder auf eine chemisch bedingte verschiedene Affinität ihrer Kernsubstanz zum Gift zurückzuführen ist. In Anbetracht der von uns sichergestellten Tatsache, dass nicht nur die Samenfäden verschiedener Tierarten, sondern auch diejenigen, die von dem gleichen Tier stammen, Resistenzunterschiede aufweisen, scheint uns allerdings die erste Alternative den Vorzug zu verdienen.

Jedoch werden erst weitere systematische Versuche mit einer grösseren Anzahl chemischer Substanzen diese Frage entscheiden, wie denn unsere Experimente überhaupt erst einen Anfang in der Erforschung dieses neuen, von O. Hertwig uns erschlossenen Forschungsgebietes bedeuten. O. Hertwig ist es

gewesen, der als erster in seinen Methylenblauversuchen am Froschsamen den Nachweis geführt hat, dass die Kernsubstanz der Spermatozoen durch chemische Mittel geschädigt werden kann, ohne dass ihre Befruchtungsfähigkeit dadurch aufgehoben wird, und dass sich auf diesem Wege Entwicklungsstörungen künstlich hervorrufen lassen. Frühere Versuche von Herbst in gleicher Richtung müssen, besonders nach den Ergebnissen unserer Arbeit, als nicht einwandfrei bezeichnet werden. Herbst versuchte durch Süsswasser und Natronlauge die Seeigelspermatozoen zu schädigen. Er behandelte die Samenflüssigkeit mit den genannten Mitteln, bis nur noch ein kleiner Teil der Spermatozoen beweglich war und führte sodann die Befruchtung aus. Nach den Resultaten unserer Arbeit müssen wir es aber im höchsten Grade als zweifelhaft bezeichnen, ob in diesen Experimenten von Herbst wirklich die Kernsubstanz der wenigen überlebenden Samenfäden, worauf es doch allein ankommt, geschädigt ist, ob nicht vielmehr auch hier eine Selektion der besser geschützten Spermatozoen im Spiele ist.

Ergeben sich hier schon Schwierigkeiten in der Deutung der Experimente mit ihren relativ einfachen Verhältnissen, so wachsen dieselben noch erheblich, sobald wir uns nicht darauf beschränken, den Einfluss konzentrierter chemischer Mittel auf die reifen Samenfäden während einer relativ kurzen Einwirkungszeit zu erforschen, sondern uns die Frage vorlegen, ob nicht auch durch chemische Stoffe in ganz kleinen Dosen, die längere Zeit auf die Spermatozoen wirken, eine Schädigung ihrer Kernsubstanz bei erhaltener Befruchtungsfähigkeit erzielt werden kann. Auch müsste untersucht werden, ob nicht die sich entwickelnden Samenzellen leichter durch Chemikalien beeinflussbar sind, als die ausgereiften Spermatozoen. Besonderer Wert wäre schliesslich auch darauf zu legen, nicht nur grobe Störungen des Entwicklungsprozesses auf diesem Wege zu erzielen, sondern auch feinere Entwicklungsanomalien an geeignetem Material festzustellen. Trotz der Wichtigkeit dieser Fragen und ihrer grossen praktischen Bedeutung für die modernen Bestrebungen der Rassenhygiene fehlt es aber auch hier noch fast ganz an einwandfreien Versuchen. Erwähnenswert sind hier höchstens die erst kürzlich veröffentlichten Versuche des Amerikaners Stockhard, der männliche Meerschweinchen mit Alkohol behandelte und einen deutlichen

Effekt des Giftes auf die Nachkommenschaft der alkoholisierten Böcke mit normalen weiblichen Tieren feststellen zu können glaubte. Aber auch diese Versuche sind nur an einem kleinen Tiermaterial ausgeführt, auch sind die Entwicklungsstörungen bei der Nachkommenschaft noch nicht genauer untersucht worden.

Literaturverzeichnis.

- Baltzer, F.: Über die Beziehung zwischen dem Chromatin und der Entwicklung und Vererbungsrichtung bei Echinodermenbastarden. Arch. f. Zellforsch., Bd. V, 1910.
- Born, G.: Beiträge zur Bastardierung zwischen den einheimischen Anurenarten. Pflügers Arch., Bd. 32, 1883.
- Derselbe: Biologische Untersuchungen. II. Weitere Beiträge zur Bastardierung zwischen den einheimischen Anuren. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 27, 1886.
- Brachet, A.: La polyspermie expérimentale dans l'oeuf de *Rana fusca*. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 79, Abt. II, 1912.
- Bury, Janina: Experimentelle Untersuchungen über die Einwirkung der Temperatur 0° C. auf die Entwicklung der Echinideneier. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 36, 1913.
- Gray, J.: The effects of hypertonic solutions upon the fertilised eggs of *Echinus*. Quart. Journ. of Micr. Science, Vol. 58, 1913.
- Häcker, W.: Mitosen im Gefolge amitosenähnlicher Vorgänge. Anat. Anz., Bd. 17, 1900.
- Herbst, C.: Vererbungsstudien. III. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 24, 1907.
- Derselbe: Vererbungsstudien. IV. und VI. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 22, 1906 und Bd. 27, 1909.
- Herlant: Recherches sur les oeufs di-et-trispermique de grenouille. Arch. de Biol., Tome 26, 1911.
- Hertwig, G.: Radiumbestrahlung unbefruchteter Froscheier und ihre Entwicklung nach Befruchtung mit normalem Samen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 77, Abt. II, 1911.
- Derselbe: Das Schicksal des mit Radium bestrahlten Spermachromatins im Seeigelei. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 79, Abt. II, 1912.
- Derselbe: Parthenogenesis bei Wirbeltieren, hervorgerufen durch artfremden radiumbestrahlten Samen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 81, Abt. II, 1913.
- Hertwig, O.: Allgemeine Biologie. IV. Auflage, Jena 1912.
- Derselbe: Die Radiumkrankheit tierischer Keimzellen. Bonn, Fr. Cohen, 1911.
- Derselbe: Veränderung der idioplasmatischen Beschaffenheit der Samenfäden durch physikalische und chemische Eingriffe. Sitzungsber. d. Königl. Preuss. Akad. d. Wiss. 31, 1912.

- Hertwig, O.: Versuche an Tritoneiern über die Einwirkung bestrahlter Samenfäden auf die tierische Entwicklung. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 82, Abt. II, 1913.
- Derselbe: Keimesschädigung durch chemische Eingriffe. Sitzungsber. d. Königl. Preuss. Akad. d. Wiss., 1913.
- Hertwig, O. und R.: Über den Befruchtungs- und Teilungsvorgang des tierischen Eies unter dem Einfluss äusserer Agentien. Jena 1887.
- Hertwig, Paula: Das Verhalten des mit Radium bestrahlten Sperma-chromatins im Froschei. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 81, Abt. II, 1913.
- Konopacki, M.: Über den Einfluss hypertonischer Lösungen auf befruchtete Echinideneier. Arch. f. Zellforsch., Bd. 7, 1911.
- Kupelwieser: Entwicklungserregung bei Seeigeleiern durch Molluskensperma. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 27, 1909.
- Derselbe: Weitere Untersuchungen über Entwicklungserregung durch stammfremde Spermien. Arch. f. Zellforsch., Bd. VIII, 1912.
- Newman: Further studies of the process of heredity in *Fundulus* hybrids. The Journ. of Experim. Zool., Vol. 8, 1910.
- Oppermann: Die Entwicklung von Forelleneiern nach Befruchtung mit radiumbestrahlten Samenfäden. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 83, Abt. II, 1913.
- Pflüger, E.: Die Bastardzeugung bei den Batrachiern. Pflügers Arch. f. d. ges. Phys., Bd. XXIX, 1882.
- Stockard, C. R. and Dorothy, M. Craig: An experimental study of the influence of alcohol on the germ cells and the developing embryos of Mammals. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 35.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel XI und XII.

Tafel XI.

Die Herstellung der Abbildungen erfolgte so, dass von den Embryonen mikrophotographische Aufnahmen angefertigt und auf den Kopien derselben noch die feineren Details mit Tusche und Bleistift eingezeichnet wurden.

Die Fig. 1—8 sind 8mal, die Fig. 9—11 sind 50mal vergrössert.

Die in den Fig. 1—3 abgebildeten Embryonen stammen von Eiern von *Rana esculenta* ab, die mit Samen von *Rana fusca* befruchtet wurden, der zuvor 1 Stunde der Wirkung einer 0,25proz. Chloralhydratlösung ausgesetzt worden war.

Die in den Fig. 5—7 abgebildeten Embryonen haben sich aus *Rana esculenta*-Eiern entwickelt, die mit Sperma von *Rana fusca* befruchtet worden waren. Der Froschsamen war vor Verwendung zur Befruchtung mit 0,05proz. Methylenblaulösung eine halbe Stunde behandelt worden.

Auf den Fig. 4 und 8 sind zwei normale *Rana esculenta*-Larven als Kontrolle photographiert.

Fig. 1 und 2. Zwei 7 Tage alte Froschlarven aus dem Chloralhydratversuch.

Fig. 3. 8 Tage alte Froschlarve aus dem Chloralhydratversuch.

Fig. 4. 8 Tage alte normale Froschlarve.

Fig. 6 und 7. Zwei 15 Tage alte parthenogenetische *Rana esculenta*-Embryonen aus dem Methylenblauversuch.

Fig. 8. 15 Tage alter normaler Froschembryo.

Die Fig. 9—11 stellen Fischembryonen (*Gobius jozo*) dar.

Fig. 9 und 10. Zwei 5 Tage alte Gobiusembryonen, welche sich aus Eiern entwickelten, die mit Sperma von *Gobius jozo* befruchtet wurden.

Die Samenflüssigkeit hatte sich vor der Besamung 1 Stunde in einer 0,1proz. Methylenblaulösung befunden.

Fig. 11. 5 Tage alter normaler Embryo von *Gobius jozo*.

Tafel XII.

Sämtliche Figuren sind bei Zeiss homog. Immersion $\frac{1}{12}$, Tubuslänge 160, Okular 3 in der Höhe des Objekttisches gezeichnet. Alle Figuren stellen Schnittbilder durch Seeigeleier (*Strongylocentrotus lividus*) dar, die sämtlich mit Samen befruchtet sind, der durch Methylenblaubehandlung geschädigt wurde.

Die Fig. 1 und 7 stammen von Eiern, die mit Samen befruchtet sind, der 3 Stunden mit einer 1proz. Methylenblaulösung behandelt wurde.

Fig. 1. 1 Stunde 55 Minuten nach der Befruchtung.

Fig. 7. 3 Stunden 15 Minuten nach der Befruchtung. Auf $\frac{2}{3}$ verkleinert.

Die Eier Fig. 2, 6 und 8 wurden mit Samen befruchtet, der 3 Stunden mit einer 0,5proz. Methylenblaulösung behandelt wurde.

Fig. 2, 6 und 8. 2 Stunden nach der Befruchtung. Fig. 6 und 8 auf $\frac{2}{3}$ verkleinert.

Die Fig. 3—5 stellen Eier dar, die mit Samen befruchtet wurden, der 2 Stunden mit 0,1proz. Methylenblaulösung behandelt wurde.

Fig. 3. 2 Stunden 20 Minuten nach der Befruchtung.

Fig. 4. 3 Stunden 25 Minuten nach der Befruchtung.

Fig. 5. 3 Stunden 10 Minuten nach der Befruchtung.

Aus dem Anatomisch-biologischen Institut der Universität Berlin.

Die Entwicklung von Forelleneiern nach Befruchtung mit radiumbestrahlten Samenfäden.

II. Teil.

Das Verhalten des Radiumchromatins während der ersten Teilungsstadien.

Von

Dr. Karl Oppermann.

Hierzu Tafel XIII und 2 Textfiguren.

Im ersten Teil der unter gleichem Haupttitel veröffentlichten Arbeit ist in ausführlicher Weise der Entwicklungsgang von Forellenembryonen beschrieben worden, die hervorgingen aus normalen Eiern, zu deren Befruchtung mehr oder minder stark radiumbestrahlte Samenfäden benutzt worden waren. Es konnte gezeigt werden, dass auch für das Teleosteerei das zuerst von O. Hertwig für die Ergebnisse der Radiumversuche an Froschkeimen aufgestellte Gesetz der Kurvenbildung gilt.

Wie bei den Experimenten mit Amphibiensamenfäden, so liess sich auch für den Knochenfisch feststellen, dass durch eine intensive Bestrahlung der Spermien (23 Stunden mit 7,5 oder 5,3 mg Radiumbromid) die Entwicklung der Embryonen einen fast der Norm entsprechenden Verlauf nahm; Forellenkulturen derartiger Versuche konnten 40—50 Tage am Leben erhalten werden. Dagegen ergab sich bei der Wahl erheblich kürzerer Bestrahlungszeiten mit gleichem Präparat (3 Stunden), dass nicht einmal mehr das Gastrulationsstadium überstanden wurde; vielmehr waren mit dem 14. Tage nach der Befruchtung alle Eier abgestorben. Geringe Bestrahlung (5 Minuten) der Spermien hatte auch nur relativ unbedeutende Schädigungen des Entwicklungsproduktes zur Folge.

Eine Erklärung für die eigentümliche Erscheinung bei den entsprechenden Versuchen an Froschkeimen, dass nämlich im Falle einer sehr starken Bestrahlung der Samenfäden die jungen Larven wieder eine verhältnismässig gute Organisation zeigen.

gibt O. Hertwig durch die Annahme, dass der in das Ei eindringende Spermakern sich überhaupt nicht mehr in normaler Weise an den Kernteilungsvorgängen beteilige, dass ihm nur noch die Rolle des Entwicklungserregers zukomme. Dies heisst aber nichts anderes, als dass es sich um Fälle von künstlicher Parthenogenese handelt.

Der tatsächliche Beweis für diese Annahme O. Hertwigs ist von Paula Hertwig (1913) erbracht worden. In Froscheiern, die ursprünglich mit stark bestrahlten Samenfäden befruchtet wurden, konnte auf dem Zwei- und Vierzellenstadium der degenerierte Spermakern stets in völlig isolierter Lage von den Zellkernen gefunden werden.

Es schien von grossem Interesse, zu untersuchen, ob die entsprechenden Erscheinungen am Forellenei sich auch auf die gleichen ursächlichen Zusammenhänge, wie sie bei *Rana fusca* gefunden wurden, zurückführen liessen. Es war zu erwarten, dass die Beobachtungen im wesentlichen zu gleichen Angaben führen würden. Dank eines reichen Materiales war es möglich, das Schicksal des radiumbestrahlten Spermiums von dem Zeitpunkt kurz nach seinem Eintritt in das Ei bis zum vollendeten Vierzellenstadium der Keimscheibe, das ungefähr in der 14. Stunde nach der Befruchtung vorlag, zu verfolgen, und so den gesamten Ablauf der Erscheinungen an einer fast lückenlosen Reihe von Stadien darzulegen, von dem im wesentlichen am Froschei nur das Schlussresultat vorlag.

Die vorliegenden Untersuchungen sind, wie die im ersten Teile veröffentlichten, im Anatomisch-biologischen Institut der Universität Berlin ausgeführt worden. Ich möchte mir an dieser Stelle erlauben, Herrn Geh. Med.-Rat Prof. Dr. O. Hertwig und Herrn Prof. Dr. Poll für die gütige Unterstützung, die mir bei der Ausführung dieser Arbeit zuteil wurde, meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Material und Methode.

Das Material, vier Paar laichreifer Forellen, erhielt ich wieder in bestem Zustande von der Forellenzuchtanstalt von C. Arens Nachf. in Cleysingen bei Ellrich a. Harz.

Die Bestrahlungen der Samenfäden wurden mit den gleichen Radium- und Mesothoriumpräparaten ausgeführt, die mir auch

schon für die früheren Versuche durch die Güte des Herrn Geh. Med.-Rat Prof. Dr. O. Hertwig zur Verfügung standen. Die Radiumpräparate enthielten 7,5 resp. 5,3 mg Radiumbromid, während das Mesothoriumpräparat einer Stärke von 55 mg Radiumbromid entsprach.

Die Versuchsmethode war wieder genau die gleiche, wie sie in der früheren Arbeit beschrieben wurde, so dass hier auf eine genauere Darstellung verzichtet werden kann.

Die Präparation der Keimscheiben wurde nach der von Kopsch-Virchow angegebenen Methode ausgeführt. Fixiert wurde mit Pikrin-Sublimat-Eisessig und Zenkerscher Flüssigkeit.

Die Keimscheiben wurden fast stets in Flachschnitte zerlegt und zwar betrug die Schnittdicke 10–15 μ .

Zur Färbung der Präparate liessen sich mit sehr gutem Erfolg frisch bereitete Lösungen von Alaun-Karmin verwenden, sowie auch Hämalan nach Meyer.

Die Zeichnungen wurden mit Hilfe des Abbeschen Zeichenapparates angefertigt.

Allgemeiner Verlauf der Versuche.

Ehe die Darlegung der Spezialuntersuchung gegeben werden soll, muss zunächst kurz auf den allgemeinen Verlauf der Entwicklung der Versuchseier eingegangen werden.

Die früheren Untersuchungen erlaubten schon bei einer Bestrahlung der Spermien während 2 Stunden mit dem Mesothoriumpräparat eine sehr beträchtliche Schädigung der Samenfäden nachzuweisen. Dies hatte zur Folge, dass die Entwicklung der mit solchen Spermien befruchteten Eier einen sehr günstigen Verlauf nahm. Die Embryonen erreichten ein Alter von 40 bis 50 Tagen; sie unterschieden sich zum Teil lediglich durch ihre geringere Grösse von den Kontrolltieren. Die Kerne erwiesen sich als haploid. Es war also zu erwarten, dass die ersten Entwicklungsstadien der Eier, die mit 2 Stunden lang bestrahltem Samen befruchtet waren, für unsere Untersuchung ein günstiges Material liefern würden, um feststellen zu können, in welcher abgeänderten Form sich bei dieser Versuchsanordnung die ersten Kernteilungsprozesse vollziehen.

Es wurden daher in der ersten Versuchsserie am 4. Dezember 1912 folgende Bestrahlungszeiten gewählt:

Versuch I 7 h. 29 Min. bis 9 h. 29 Min. Mesothor (55 mg).

„ II 9 h. 43 Min. bis 11 h. 43 Min. Mesothor (55 mg).

„ III 12 h. — Min. bis 2 h. 4 Min. Mesothor (55 mg).

„ IV 7 h. 25 Min. bis 10 h. 20 Min. Radium I (7,5 mg).

In Versuch IV wurde den Samenfäden eine bedeutend geringere Strahlenmenge zugeführt. Die früheren Versuche hatten gelehrt, dass bei einer derartigen Bestrahlung die embryonale Entwicklung nicht über das Stadium der Gastrula fortging. Es sollte auch das Verhalten des schwächer bestrahlten Spermakernes auf den ersten Teilungsstadien beobachtet werden.

Nach der Bestrahlung waren die Samenfäden in allen Fällen gut beweglich.

Zu jedem Versuche wurden ungefähr 30–40 Eier verwendet. Wie aus den späteren Beobachtungen hervorging, war das Befruchtungsergebnis im allgemeinen gut, mit Ausnahme des Versuches I, in dem sich höchstens 50% der vorhandenen Eier entwickelt hatten. Kontrollbefruchtungen wurden stets ausgeführt.

Von 2 Stunden nach der Befruchtung an wurden in reichlicher Folge Keimscheiben nach der oben angegebenen Methode fixiert und zwar gleichzeitig aus derselben Kultur immer mindestens zwei Stück. Die Fixationen wurden bis zur 14. Stunde nach der Besamung fortgesetzt; die ältesten Kontrolleier zeigten dann schon Achtteilung.

Die übrigen Eier wurden in fließendem Wasser zur Weiterentwicklung belassen. Es bestätigten sich im wesentlichen die schon früher erhaltenen Ergebnisse. Die Eier des Versuches IV starben zuerst ab, so dass 14 Tage nach Beginn des Versuches kein Ei mehr am Leben war. Aus den anderen Kulturen entwickelten sich zum Teil normal aussehende Embryonen, die nur durch den Grössenunterschied gegenüber den Kontrolltieren auffielen, zum Teil aber auch schon makroskopisch erkennbar pathologische Exemplare. Am 23. Tage wurde dieser Versuch beendet.

Die zweite Reihe von Experimenten wurde am 8. Januar 1913 vorgenommen.

Da nach einer zweistündigen Bestrahlung die Samenfäden nach Zusatz von Wasser eine anscheinend noch normale Beweglichkeit zeigten, so wurden jetzt etwas längere Bestrahlungszeiten gewählt. Daneben wurden auch noch sehr lange Bestrahlungen mit den schwachen Radiumpräparaten (7,5 und 5,3 mg) vorgenommen.

Versuch V	7 ³² bis 10 ²	Mesothor.
Versuch VI	10 ⁵⁵ bis 2 ⁵	Mesothor.
Versuch VII	Mittw. 2 ⁵⁰ bis Donnerstag 9 ⁴⁰	R ₁ = 18 Std. 50 Min.
Versuch VIII	" 2 ⁵⁰ " " 9 ⁴⁰	R ₂ = 18 Std. 50 Min.
Versuch IX	Freitag 11 ¹¹ bis Sonnabend 10 ¹¹	R ₁ = 23 Std.
Versuch X	" 11 ¹¹ " " 10 ¹¹	R ₂ = 23 Std.

Auch aus dieser Serie wurde eine grosse Anzahl von Stadien bis zur 14. Stunde nach der Besamung fixiert.

Der spätere Entwicklungsverlauf gestaltete sich leider insofern ungünstig, als durch irgendwelche Einwirkungen, vom 14. Tage an, sowohl die Kontroll- wie auch die Versuchskeimlinge rapide abzusterben begannen. Ob eine einmalige, mehrere Stunden andauernde Störung in der Wasserzuleitung, oder irgend welche Infektion das Absterben bedingte, konnte nicht festgestellt werden. Für die hier speziell in Betracht kommenden Untersuchungen war diese Störung jedoch ohne die geringste Bedeutung.

Spezieller Teil.

Die ersten Entwicklungsvorgänge in normalen Eiern nach Befruchtung mit radiumbestrahlten Samenfäden stimmen völlig mit den unter normalen Bedingungen erhaltenen Stadien überein. Das Spermium dringt in das Ei ein. Der Spermakopf wandelt sich allmählich zum Spermakern um. Er ist zunächst noch klein, kugelförmig und besitzt einen Durchmesser von 6μ . 2 Stunden nach der Befruchtung ist das Zentrosoma noch ungeteilt, es zeigt aber schon eine nicht unbeträchtliche Strahlung. In einiger Entfernung findet sich der fast gleichgrosse, etwas gelappte Eikern. In 4 Stunden alten Keimscheiben war Ei und Samenkern stets in seitlicher Aneinanderlagerung zu finden. Beide Kerne sind zu relativ bedeutender Grösse herangewachsen. Es beträgt der gesamte Querdurchmesser beider Kerne ungefähr 24μ , während jeder durchschnittlich eine Höhe von 20μ hat. Die Grösse beider Kerne ist kaum verschieden. Strukturdifferenzen sind zunächst nicht erkennbar, so dass auf diesem Stadium eine Unterscheidung von Ei und Samenkern nicht mit Sicherheit möglich ist. An 6 Stunden alten Objekten hat sich das Bild erheblich geändert. Noch immer liegt das Kopulationsstadium der beiden Kerne vor. Sie haben noch an Grösse etwas zugenommen. Mit völliger Sicherheit lässt sich aber jetzt erkennen, dass es sich nicht um

ein einheitliches Verschmelzungsprodukt handelt. Der Kopulationskern zeigt sich deutlich aus zwei verschiedenen Teilen zusammengesetzt. Das Chromatin des einen Halbkernes ist gleichmässig gefärbt und zeigt netzartige Verteilung. Im anderen Teile dagegen befindet sich das Chromatin vorwiegend in zentraler Lage des bläschenförmigen Kernes, ist kompakter und hat intensiv Farbstoff aufgenommen (Fig. 1). An einzelnen Objekten ist auch zu sehen,



1:950

Fig. 1.

den anderen an Grösse etwas übertrifft und sich bogenförmig um diesen herumlegt (vergl. Textfigur 1). Die weitere Entwicklungsgeschichte lehrt nun, dass niemals ein einheitlicher Furchungskern zustande kommt, sondern es beginnt nun jeder Teil für sich Chromosomen zu bilden, so dass in der ersten Mitose eine strenge Sonderung des väterlichen und mütterlichen Kernanteiles vorliegt.

Es wird sich nun die Frage erheben, in welcher Weise unter normalen Verhältnissen die Bildung der ersten Furchungsspindel aus dem Kopulationskern erfolgt.

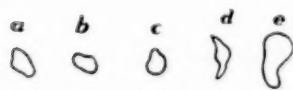
Die Reifung und Befruchtung des Forelleneies ist schon mehrfach Gegenstand der Bearbeitung gewesen. Von den vorhandenen Untersuchungen kommt hier nur die von Behrens (1898) als die neueste in Betracht, in der auch die früheren Autoren weitgehendst zum Vergleich herangezogen worden sind. Auch Behrens konnte feststellen, dass sich die beiden Vorkerne aneinanderlegen und zu gewissen Zeitpunkten Verschiedenheiten der Grösse und Struktur zeigen. Dann heisst es aber bei ihm: „Die Verschiedenheit der Kernstruktur der Vorkerne dürfte jedoch nicht etwa für den einen oder den anderen Kern charakteristisch sein. Wahrscheinlich handelt es sich nur um Altersdifferenzen, da ja gewöhnlich der eine oder der andere Kern, meist wohl der Spermakern, in der Entwicklung etwas voraus ist.“ Es ist also zunächst bemerkenswert, dass schon unter normalen Verhältnissen ein Kopulationskern beobachtet worden ist, der aus zwei Teilen besteht, die sich durch Struktur und Grösse voneinander unterscheiden können. Es soll dann allerdings ein einheitlicher Verschmelzungskern gebildet werden. Jedoch ist sich der Autor seiner Sache nicht ganz sicher. Es heisst: „Die Vorkerne

verschmelzen anscheinend immer vor der Bildung der ersten Furchungsspindel zu einem ruhenden Kern“. Es wird dann noch ein ziemlich weit fortgeschrittenes Stadium des ersten Kernteilungsvorganges abgebildet; die Chromosomen liegen alle in gleichmässiger Verteilung zur Äquatorialplatte angeordnet. Behrens, wie auch schon früher Blanc, haben die Entstehung der ersten Furchungsspindel aus dem Verschmelzungskern nicht beobachten können. Es scheinen aber gerade diese Zwischenstadien, die sich relativ schnell weiter entwickeln, von wesentlicher Bedeutung zu sein. Ein derartiges frühes Kernteilungsbild, in dem die Entfernung der Strahlungszentren voneinander erst $30\ \mu$ beträgt, zeigt nämlich die väterlichen und mütterlichen Chromatinmassen wie zwei Halbkugeln gebildet, die deutlich durch eine helle Linie voneinander getrennt sind. In einer zweiten Kontrollkeimscheibe, die gleichzeitig mit der eben beschriebenen fixiert wurde und auch aus gleicher Kultur stammte, war die Spindelfigur in etwas weiterer Ausbildung. Der Längsdurchmesser betrug jetzt $40\ \mu$. Auch hier war die Gruppierung des Chromatins in zwei Teile vorhanden, und diese zeigten einen verschiedenen Grad der Differenzierung. In der einen Hälfte hatte bereits eine stärkere Auflockerung stattgefunden, es waren schon teilweise einzelne Chromatinschleifen zur Ausbildung gekommen, während in der anderen Partie das Chromatin noch kompakter war. In diesen frühesten Mitosebildungen ist also eine Sonderung in männliche und weibliche Kernbestandteile vorhanden, dagegen verschwindet der Unterschied bereits an Objekten, die eine halbe Stunde älter sind. Beträgt die Spindelänge $58\ \mu$, so liegen die Chromosomen völlig gleichmässig in einer Äquatorialplatte angeordnet.

Was die Frage des Kopulationskernes anbetrifft, so soll jedoch nach allen bisherigen Untersuchungen stets ein einheitlicher Verschmelzungskern gebildet werden. Allerdings weichen die Angaben, wann die Bildung vor sich gehen soll, stark voneinander ab. Kupffer behauptet, dass von der 3. bis zur 10. Stunde in allen der von ihm untersuchten Eier nur ein Kern vorhanden gewesen sei. Nach Blanc soll $9\frac{1}{2}$ Stunden nach der Besamung ein einheitlicher Verschmelzungskern entstanden sein. Dann schreibt Behrens: „Wenn ich nun auch die direkte Verschmelzung der Vorkerne nicht habe verfolgen können, wie Blanc, so habe ich doch den Furchungskern selbst beobachtet, und da weichen

nun meine Beobachtungen von denjenigen Blancs wieder erheblich ab.“ Es ist also bezüglich der Frage der Beschaffenheit des Furchungskernes durchaus noch kein einheitliches Resultat erzielt. Nach Beobachtungen, die gelegentlich an einzelnen Kontrollstadien gemacht wurden, konnte ein Verschmelzungskern nicht gefunden werden.

Den Angaben, dass ein einheitlicher Verschmelzungskern beim normalen Teilungsvorgang gebildet werden soll, stehen ausserdem noch die Beobachtungen gegenüber, dass in den Versuchskeimscheiben ein einheitlicher Kopulationskern sicherlich nicht gebildet wird; je näher der Zeitpunkt der Teilung des Kernes rückt, mit um so grösserer Deutlichkeit lässt sich seine Zusammensetzung aus zwei heterogenen Substanzen erkennen (Fig. 1). Diese Struktureigentümlichkeiten sind für die beiden Kerne charakteristisch. Das Chromatin des männlichen Vorkernes ist nicht gleichmässig verteilt, sondern es ist mehr in der Mitte lokalisiert und intensiver gefärbt; dies sind Zustände, die 6 Stunden nach der Befruchtung stets gefunden wurden. In der 7., bei der zweiten Versuchsserie in der 8. Stunde, liegt dann eine Spindelfigur vor. Die Spindellänge beträgt zunächst 38 μ , steigt aber in kurzer Zeit, innerhalb 1 Stunde, auf 87 μ . Während nun der weibliche Halbkern in anscheinend ganz normaler Weise zur Bildung der Chromosomen schreitet, ballt sich die chromatische Substanz des männlichen Kernes zu einem homogen gefärbten Klumpen zu sammen. Fig. 2 und 3 veranschaulichen solche Stadien. In Textfig. 2, a—d sind von vier verschiedenen Objekten diese



1:840

Fig. 2.

Chromatinballen der ersten Mitose auf Umrisszeichnungen wieder gegeben. Der Volumeninhalt ist in allen Fällen ungefähr der gleiche. Interessant war das Vorkommen eines Tetrasters. Auch in diesem Falle liegt der Rest des Spermakernes als dunkel ge-

färbte Masse in der Mitte der Spindel. Aber wie die Umrisszeichnung e zeigt, ist sein Volumen bedeutend grösser. Es handelt sich offenbar um einen Fall von Dispermie, in dem sich der Chromatinanteil beider Spermien zu einer einheitlichen, homogen gefärbten Masse vereinigt hat. Es war dies das einzige polysperme Ei, das beobachtet wurde.

Ein weiteres Stadium der ersten Mitose ist in Fig. 4 abgebildet. Die Chromosomen rücken auf die Centrosomen zu und haben sich in völlig normaler Weise angeordnet, aber die Zahl der Chromosomen ist nur gering. Der Rest des Spermakernes liegt noch genau in der Mitte der Spindel. Seine Form hat sich verändert. Dem herrschenden Zug folgend hat er sich in der Hauptrichtung der Kernteilungsfigur gestreckt.

Die normalen weiblichen Chromosomen werden bläschenförmig und wandeln sich zu einem Ruhekern um. Unterdes hat auch die Zellwandbildung begonnen, so dass nun das fertige Zweizellenstadium vorliegt. Die beiden Zellkerne sind zunächst noch durch eine ausserordentlich feine, aber scharf gefärbte Linie, dem vereinigten Rest der Spindelfasern, verbunden (Fig. 5). Diese Verbindungslinie ist in der Mitte, genau auf der neuen Zellwand, verdickt. Diese Verdickung, die die Form eines Bläschens hat, das in der Richtung der Verbindungslinie gestreckt ist, stellt den Spermarestkern vor. Seine Länge beträgt fast konstant 8μ . Die Struktur ist bei verschiedenen Objekten nicht immer gleichmässig, entweder ist sie körnig, oder in einem hellen Hof liegt das Chromatin als kompaktes Gebilde (Fig. 6). Auf etwas älteren Stadien ist der Kern anscheinend wahllos in eine der beiden Blastomeren eingerückt. Dies beruht darauf, dass der Spindelfaserstrang, der noch die beiden Kerne verband, durchgerissen ist. Der Spermakern folgt nun dem Zug der Spindelfasern und bewegt sich auf den einen Zellkern zu. Die beiden Kerne schreiten nun wiederum zur Teilung. Fig. 7 und 8 veranschaulichen das Entwicklungsstadium zweier gleichzeitig und aus gleicher Kultur fixierter Objekte. In Fig. 8 ist bei stärkerer Vergrösserung nur die eine Mitose abgebildet. Fig. 7 gibt bei schwächerer Vergrösserung beide Spindeln der anderen Keimscheibe wieder. Diese Abbildungen zeigen auch, in wie gleichmässiger Weise sich die Bildungsvorgänge bei verschiedenen Objekten vollziehen. Bemerkt sei noch, dass bei beiden Keimscheiben sowohl die Längsrichtung der Spindel wie auch der Spermakern auf einem Schnitt zu finden waren. Daher konnten auch stets die von einem Centrosoma nach dem Spermarestkern hingehenden Strahlungen beobachtet werden. Das Spermachromatin erscheint als homogen gefärbter Körper, dessen Länge 10μ beträgt, ohne dass bei dieser Angabe die feinen Ausläufer berück-

sichtigt wären. Diese beiden Keimscheiben, wie auch noch einige andere waren zur Zählung der Chromosomen sehr geeignet. Die Schnitte (15μ) trafen die Spindeln immer genau in der Längsrichtung. Während in normalen Teilungsfiguren eine Bestimmung der Zahl der Chromosomen wohl unmöglich ist, konnte in einigen Fällen bei den Versuchsobjekten die Zahl mit einem hohen Grade von Wahrscheinlichkeit auf 12 festgesetzt werden. Wenn es auch nicht immer möglich war genaue Zahlenangaben zu machen, so war häufig nur daran gelegen, festzustellen, dass sich tatsächlich diese ganzen Wachstumsprozesse in Zellen vollziehen, deren Kerne eine erheblich verringerte, etwa die halbe Chromosomenzahl enthielten. Auch Messungen des Durchmessers der Äquatorialplatte zeigen immer einen deutlichen Grössenunterschied zwischen Kontroll- und Versuchsobjekten.

Die zweigeteilten Keimscheiben des Versuches IV liessen keine von den normalen Verhältnissen abweichenden Beschaffenheiten erkennen. Auch hier zeigte sich der zu einem feinen Strang zusammengeballte Rest der Spindelfasern, aber irgend welche Bildungen, die als ausgeschiedener Spermachromatin zu deuten wären, konnten nicht beobachtet werden.

Das Vierzellenstadium.

Je länger der Restkern sich in einer der Blastomeren befindet, um so häufiger zeigen sich Stadien, die darauf hindeuten scheinen, dass die in der ersten Furchungsspindel ausgeschiedene chromatische Substanz des bestrahlten Spermiums durchaus nicht immer als tote Masse aufzufassen ist. Es konnte beobachtet werden, dass in einigen Fällen der spindelförmige Spermakern sich wieder abrundet, an Volumen zunimmt und dass die kompakte Chromatinmasse eine körnige Struktur annimmt. Diese Umwandlungen scheinen in dem Sinne gedeutet werden zu müssen, dass es sich in diesen betreffenden Fällen tatsächlich um eine Rekonstruktion des Kernes handelt. Ein derartiges Gebilde, das in mehr oder minder vollkommener Form wieder die Gestalt eines Kernes zeigt, findet sich dann stets in unmittelbarer Nähe eines Zellkernes und zeigt die Tendenz, mit diesem zu verschmelzen. Andererseits kann der Spermakern sein früher geschildertes Aussehen nicht verändert haben und sich noch in beträchtlicher Entfernung von den Zellkernen befinden.

Es ist also das Verhalten des Spermakernes auf dem Vierzellenstadium durchaus nicht einheitlich, wenngleich (also mit Ausnahme von Versuch IV) zunächst nur von den Versuchen die Rede sein soll, in denen die Samenfäden sehr stark bestrahlt wurden.

In Abb. 10 finden sich die vier Kerne auf dem Querschnitt durch die gefurchte Keimscheibe. In einer Blastomere liegt in grösserer Entfernung vom Zellkern der spindelförmig gestaltete, homogen gefärbte Rest des Spermakernes, dessen Längsdurchmesser auf den Zellkern zu gerichtet ist. Bei einem anderen Objekte war die Entfernung zwischen Zell- und Spermakern nicht so erheblich, der letztere war wieder homogen gefärbt, aber die Spindelform trat nicht mehr so deutlich zutage; besonders auffällig war eine tiefe Einschnürung in der Mitte, die wie auch das ganze sonstige Aussehen auf einen Zerfall hinzudeuten schien.

Eine andere Gruppe umfasst solche Objekte, bei denen der Spermarestkern Strukturdifferenzierungen erkennen lässt. Die eine Keimscheibe zeigte deutlich die vier Zellkerne, von denen sich drei völlig glichen. Dem vierten Zellkern lag ein zylindrisches Körperchen an, dessen Längsdurchmesser ebenso gross war wie der des Zellkernes, an einem Ende zeigte dieses Gebilde eine bläschenförmige Auflockerung, während das andere Ende noch gleichmässig gefärbt, strukturlos war (Fig. 11).

Noch interessanter ist ein zweiter Fall. Auf Umrisszeichnungen sind alle vier Kerne wiedergegeben (Fig. 12). Drei stimmen in Struktur und Grösse völlig überein, der vierte ist verändert. Unschwer ist zu erkennen, dass dieser aus zwei Teilen besteht. Der Hauptkern hat einen seitlichen Fortsatz, an dessen Ende ein ovaler, etwas dunkler gefärbter, körniger Körper sich befindet. Es ist ohne Zweifel, dass dieser Körper als der Spermarestkern zu deuten ist, und es erscheint ebenfalls wohl sicher, dass er in diesem Stadium nicht als ein Degenerationsprodukt aufzufassen ist, sondern im Gegenteil, dass es sich hier um einen rekonstruierten Kern handelt.

Eine besondere Besprechung erfordern noch die Vierzellenstadien des schwachen Bestrahlungsversuches (Versuch IV). Sind ruhende Kerne vorhanden, so sind Unterschiede gegenüber den normalen Objekten mit Sicherheit nicht festzustellen. In Mitosen

dagegen zeigen sich häufig Unregelmässigkeiten. In der Telophase hat es häufig den Anschein, als ob in der einen Hälfte des Dyasters die Zahl der Chromosomen grösser ist als in der anderen. Interessant ist, dass einmal eine Spindel gefunden wurde, in der abseits von der Äquatorialplatte eine Gruppe abgesplitteter Chromosomen zu finden war, und zwar in folgenden Grössenverhältnissen (Fig. 9): Die Länge der Spindel $40\ \mu$, Durchmesser der Äquatorialplatte: $12\ \mu$, Entfernung der abgesplitteten Chromosomengruppe: $8\ \mu$, Durchmesser derselben $4\ \mu$.

Zusammenfassung und Folgerungen.

Auch diese Untersuchungen beweisen von neuem die Richtigkeit der Annahme, dass vorwiegend das Chromatin der Keimzellen von den Radiumstrahlen beeinflusst wird. Am ruhenden Spermakern konnten noch keine Strukturveränderungen wahrgenommen werden. Sobald jedoch die Kernteilung beginnt, sobald die Umwandlungsprozesse der Kernsubstanz ihren Anfang nehmen, wird die total veränderte Struktur des Chromatins des Samenfadens sichtbar. Es konnte gezeigt werden, dass das Spermium in das Ei eindringt, dort von einem winzig kleinen Kern von $6\ \mu$ Durchmesser zu einem ovalen Bläschen von beträchtlicher Grösse heranwächst, das einen Längs- und Querdurchmesser von 20 resp. $12\ \mu$ besitzt. Immer findet eine Kopulation des männlichen und weiblichen Vorkernes statt. Erst wenn ungefähr 4 Stunden seit der Befruchtung verflossen sind, treten die charakteristischen Veränderungen im Chromatin des väterlichen Kernes auf. Ein einheitlicher Verschmelzungskern konnte nie beobachtet werden. Ist die ursprüngliche Bestrahlung der Samenfäden intensiv genug gewesen, so wird das zu einer homogen gefärbten Masse zusammengeballte Chromatin des männlichen Kernes in der ersten Mitose eliminiert. Während des weiteren Entwicklungsverlaufes zeigt das ausgeschiedene Radiumchromatin nicht bei allen Objekten ein gleiches Verhalten. Die auftretenden Differenzen sind lediglich bedingt durch den verschiedenen Schädigungsgrad der Spermien. Einmal konnten solche Fälle beobachtet werden, in denen noch auf dem Vierzellenstadium das in der ersten Furchungsspindel ausgeschiedene Chromatin als strukturloser, spindelförmiger Körper sich in völlig isolierter Lage von den Zellkernen befand. Aus dieser Tatsache kann der Schluss gezogen werden, dass bei hin-

reichend starker Bestrahlung der Samenfäden sich der gesamte Bildungsprozess des Embryos ohne Anteilnahme des väterlichen Chromatins vollzieht. Es ist dies so zu verstehen, dass der Entwicklungsreiz durch das eingedrungene Spermium gegeben wird, dass nun aber das frühzeitig ausgeschiedene Radiumchromatin als absolut toter Körper in eine der Zellen zu liegen kommt und später auf irgend eine Weise völlig verschwindet. Ein derartiger Entwicklungsmodus wird in denjenigen Fällen vorliegen, welche, wie in der früheren Arbeit näher beschrieben wurde, zur Entwicklung solcher Embryonen führten, die ein Alter von 40–50 Tagen erreichten und sich lediglich durch geringere Grösse von den Kontrolltieren unterschieden. Durch das Spermium ist der Kernteilungsprozess ausgelöst worden; aber das geschädigte Chromatin kann seine vergiftende Wirkung nicht zur Geltung bringen. Es ist ersichtlich, dass eine solche Art der Entwicklung nicht als Parthenogenese im strengen Sinne bezeichnet werden darf.

Die Ausschaltung des durch die Radiumbestrahlung geschädigten Chromatins braucht nun aber keine dauernde zu sein. Es konnte gezeigt werden, dass auf dem Vierzellenstadium eine Rekonstruktion des Spermakernes erfolgen kann, der dann mit einem der Zellkerne verschmilzt. Ein derartiger neugebildeter Spermakern stellt einen relativ grossen Körper von elliptischer Form dar, der etwas dunkler als die übrigen Zellkerne gefärbt ist und eine deutliche körnige Struktur zeigt. Es ist nicht gelungen, zu beobachten, in welcher Weise sich dieser Kern bei den weiteren Teilungsvorgängen verhält. Wie dem aber auch sein mag, es genügt zunächst die Tatsache festzustellen, dass auf dem Vierzellenstadium ein Wiedereingreifen des einmal ausgeschiedenen Chromatins in den Kernteilungsvorgang stattfinden kann. Es ist erklärlich, dass jede erneute Teilnahme des Radiumchromatins am Wachstum des Keimes nur von schädigendem Einfluss sein wird. Nun war es ja auch tatsächlich möglich, festzustellen, dass als Resultat der hier in Betracht kommenden Bestrahlungsversuche neben annähernd normalen, zum Teil ziemlich stark pathologische Embryonen auftraten. Eine Erklärung für die verschiedene Ausbildung der Forellenkeimlinge wird also durch die Untersuchung der Vierzellenstadien geliefert. Findet eine Verschmelzung des rekonstruierten Spermakernes mit einem der Zellkerne statt, so werden die Abkömmlinge dieser Zelle ge-

schädigt sein und stärker missbildete Formen hervorgehen lassen. Je später aber diese Wiedervereinigung geschieht, um so weniger Zellen unterliegen den störenden Einwirkungen des bestrahlten Chromatins und um so mehr wird eine der Norm angenäherte Entwicklung stattfinden.

Was die Ergebnisse des Versuches IV anbelangt, so sind Deutungen wegen eines weniger reichlichen Materials nur in wenig ausführlicher Form zu geben. Es gehört dieser Versuch zu jener Gruppe von Experimenten, in denen die Entwicklung nur bis zum Gastrulationsstadium verläuft. Hier konnten nur insofern von der Norm abweichende Verhältnisse gefunden werden, als in den Mitosen der viergeteilten Keimscheibe Unregelmässigkeiten auftreten. Jedenfalls beteiligt sich der Spermakern zunächst noch an den Kernteilungen und verteilt sich auch noch anscheinend auf alle Blastomeren.

Es ist schon vorher einmal erwähnt worden, dass, soweit die bisherigen Erfahrungen reichen, bei diesen Versuchen an den Keimen der Forelle von einer echten parthenogenetischen Entwicklung in keinem Falle gesprochen werden kann, denn es kommt stets zu einer Kopulation des männlichen und weiblichen Vorkernes. Was sonst an tatsächlichen Beobachtungen vorliegt, zeigt, dass lediglich die chromatische Substanz des radiumbestrahlten Spermiums von der Entwicklung in mehr oder minder vollkommener Form ausgeschaltet wird. Welches aber auch die Bedeutung sein mag, die die übrigen Kernbestandteile für die Organisation des sich bildenden Embryos haben mögen, es ist der Beweis erbracht worden, dass für den Grad der Schädigung lediglich die Frage entscheidend ist, ob das in der ersten Mitose ausgeschiedene Chromatin an der späteren Entwicklung wieder teilgenommen hat oder nicht.

Obgleich zunächst ein Kopulationskern gebildet wird, so sind doch die Störungen in der Lagerung der weiblichen Chromosomen in der ersten Spindelfigur so geringfügig, dass Kerne entstehen, die sich in völlig normaler Weise weiter vermehren können. Dies ist aber nur dadurch möglich, dass ein einheitlicher Verschmelzungskern nicht gebildet wird, sondern dass der männliche und weibliche Kern in scharfer Trennung voneinander zur Chromosomenbildung schreitet. Einmal wäre es nun möglich, dass infolge des experimentellen Eingriffes der Befruchtungs-

prozess in anderer Weise verläuft als es unter normalen Bedingungen der Fall ist, da nach den bisher vorliegenden Untersuchungen ein einheitlicher Verschmelzungskern zustande kommen soll. Wenn man dagegen das Verhalten des bestrahlten Spermakernes während der ersten Stunden nach der Befruchtung in Betracht zieht, sowie auch die Tatsache, dass die Kontrollkulturen in ganz jungen Stadien der ersten Mitose eine Sonderung der Chromosomen in zwei Komponenten zeigten, so ist es sehr wahrscheinlich, dass auch unter normalen Verhältnissen ein Austausch der männlichen und weiblichen Chromatinbestandteile im Kopulationskern unterbleibt.

Vergleich mit den entsprechenden Untersuchungen von G. Hertwig und P. Hertwig.

Es bleibt nun noch die Frage zu erledigen, in welcher Weise sich die Resultate, die durch das Studium der ersten Teilungsstadien der Forellenkeimscheibe gewonnen wurden, mit den Ergebnissen, die Günther Hertwig (1912) durch entsprechende Untersuchungen am Seeigel und Paula Hertwig (1913) an den Eiern des Frosches erzielten, vereinigen lassen. G. Hertwig bestrahlte Seeigelspermien bis zu 23 Stunden mit dem starken Mesothoriumpräparat (55 mg). Eine Verschmelzung der Vorkerne fand nicht statt, die erste Teilung vollzog sich lediglich unter dem Einfluss des weiblichen Kernes. Aber spätestens auf dem Zweizellenstadium trat dann die Kopulation der Kerne ein. Es könnte ein Vergleich der Abb. 6 bei G. Hertwig und der hier unter 2 dargestellten den Anschein erwecken, als handele es sich um analoge Verhältnisse. Dies trifft aber nicht zu. Fig. 6 ist nur ein Spezialfall der unter 1 abgebildeten Stadien, die in folgender Weise erklärt werden: „Der Spermakern, der zu dieser Zeit unter normalen Verhältnissen zu einem einheitlichen Furchungskern verschmolzen sein sollte, liegt noch als kompakte, schwarz gefärbte Masse abseits.“ In unseren Untersuchungen dagegen stellte eine derartige intensiv gefärbte Masse stets den Rest eines Spermakernes vor, der in der ersten Mitose eliminiert wurde. Erst dieser Restkörper kann die Fähigkeit erlangen, sich zu einem neuen Kern wieder umzubilden, um dann mit einem der Zellkerne zu verschmelzen.

Die Ergebnisse der Untersuchungen beim Frosch und Seeigel stimmen darin überein, dass bei beiden Objekten dem Spermium

nur die Rolle des Entwicklungserregers zukommt. P. Hertwig schreibt: „Nicht anders wie der Anstich mit einer feinen Nadel in Bataillons Versuchen wirkt hier das Eindringen des Samenfadens.“ Die Samenfäden des Frosches sind so stark geschädigt, dass sie noch im viergeteilten Ei in völlig isolierter Lage von den Zellkernen liegen. Dies lässt den Schluss auf eine absolute Elimination aus dem ganzen Entwicklungsgange zu. Liegt nun also bei den Versuchen an den Keimen des Frosches eine parthenogenetische Entwicklung vor, so kann dies nach den bisher vorliegenden Untersuchungen für die Forelle nicht gelten. Das Endziel ist jedoch in beiden Fällen das gleiche, es bilden sich Embryonen, die sich von Kontrolltieren im wesentlichen nur durch geringere Grösse auszeichnen.

Literaturverzeichnis.

- Behrens, C.: Die Reifung und Befruchtung des Forelleneies. Merkel-Bonnet, Anat. Hefte, X, 1898.
- Blanc, H.: Étude sur la fécondation de l'oeuf de la truite. Zoologische Abhandlungen. August Weissmann zu seinem 60. Geburtstage gewidmet von der naturf. Ges. zu Freiburg i. B., 1899.
- Boehm, A.: Die Befruchtung des Forelleneies. Sitzungsber. d. Ges. f. Morph. u. Phys. in München, 1891.
- Hertwig, G.: Das Schicksal des mit Radium bestrahlten Spermachromatins im Seeigelei. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 79, Abt. II, 1912.
- Derselbe: Parthenogenesis bei Wirbeltieren, hervorgerufen durch artfremden radiumbestrahlten Samen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 81, Abt. II, 1913.
- Hertwig, O.: Die Radiumstrahlung in ihrer Wirkung auf die Entwicklung tierischer Eier. Mitteilung vom 15. Juli 1909. Sitzungsber. d. Königl. Preuss. Akad. d. Wiss., XI, 1910.
- Derselbe: Neue Untersuchungen über die Wirkung auf die Entwicklung tierischer Eier. Mitteilung vom 28. Juli 1910. Sitzungsber. d. Königl. Preuss. Akad. d. Wiss., XXXIX, 1910.
- Derselbe: Die Radiumkrankheit tierischer Keimzellen. Bonn, Fr. Cohen, 1911.
- Derselbe: Mesothoriumversuche an tierischen Keimzellen, ein experimenteller Beweis für die Idioplasmanatur der Kernsubstanzen. Mitteilung vom 6. Juli 1911. Sitzungsber. d. Königl. Preuss. Akad. d. Wiss., XL, 1911.
- Derselbe: Disharmonische Idioplasmaverbindungen und ihre Folgen. Scientia, Bd. 12, Jahrg. 6, 1911.
- Hertwig, Paula: Durch Radiumbestrahlung hervorgerufene Veränderungen in den Kernteilungsfiguren der Eier von *Ascaris megalocephala*. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 77, Abt. II, 1911.

- Hertwig, Paula: Das Verhalten des mit Radium bestrahlten Spermachromatins im Froschei. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 81, Abt. II, 1913.
- Kupffer, C.: Die Befruchtung des Forelleneies. Bayerische Fischereizeitung, 1886.
- Oppermann, K.: Die Entwicklung von Forelleneiern nach Befruchtung mit radiumbestrahlten Samenfäden. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 83, Abt. II, 1913.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel XIII.

- Fig. 1. Kopulationskern, 6 Stunden nach der Befruchtung. (Vergr. 1:840.)
- Fig. 2—4. Erste Furchungsspindel auf verschiedenen Stadien.
- Fig. 5. Zweizellenstadium mit Ruhekernen. Auf der Zellwand das ausgeschiedene Spermachromatin.
- Fig. 6. Das Spermachromatin ist in eine Zelle gerückt.
- Fig. 7. Übergang zum Vierkernstadium. Beide Mitosen, neben der einen Furchungsspindel das Radiumchromatin. (Vergr. 1:250.)
- Fig. 8. Objekt, das gleichzeitig mit dem in Fig. 7 dargestellten fixiert wurde, auch aus gleicher Kultur. Die eine Mitose bei stärkerer Vergrößerung. (Vergr. 1:350.)
- Fig. 9. Eine Mitose aus einer viergeteilten Keimscheibe. Das Ei wurde mit Samen befruchtet, der 3 Stunden intensiv mit Radium bestrahlt worden war.
- Fig. 10. Viergeteiltes Ei. In einer der Blastomeren liegt das Spermachromatin in völlig isolierter Lage.
- Fig. 11. Einer der vier Zellkerne mit angelagertem Spermachromatin.
- Fig. 12. Die vier Kerne einer Keimscheibe. Der eine mit dem zum Kern rekonstruierten Radiumchromatin. (Vergr. 1:950.)

Aus dem Anatomisch-biologischen Institut der Berliner Universität.

Die Samenbildung bei den Enten.

Von

Karl Schöneberg.

Hierzu Tafel XIV — XVII.

Einleitung.

Seitdem die Bedeutung der Keimzellen als Träger der Erbmasse für die Vererbungslehre erkannt war, hat das Studium ihres Baues und ihrer Geschichte ein immer grösseres Interesse gewonnen. Neben der experimentellen Erbllichkeitsforschung entstand als neuer Zweig der Vererbungslehre die Erbcytologie, die in den letzten Jahrzehnten wesentlich zu dem Aufschwung der Erbbiologie und zu der Lösung ihrer Aufgaben beigetragen hat. Das einzige Mittel, erfolgreich die Erscheinungen der Vererbung erklären zu können, ist das Zusammenarbeiten physiologischer und morphologischer Untersuchung, wie es besonders bei dem Problem der Geschlechtsbestimmung in der neuesten Zeit zu überraschenden Ergebnissen geführt hat. Leider ist dieses Ideal, das Handinhandgehen beider Forschungsrichtungen, noch selten erfüllt. Entweder fehlt der cytologischen Keimzellforschung die Ergänzung durch das Experiment oder bei biologischen Versuchen ist die zelluläre Untersuchung der Gonaden vernachlässigt worden.

Häufig sind Vögel das Material experimenteller Vererbungsstudien gewesen, wie z. B. die bekannten Versuche Davenport's. Batesons und Punetts mit Hühnern zeigen. Weniger Beachtung haben die Vögel dagegen in der Erbcytologie gefunden. Nur eine geringe Anzahl von Arbeiten beschäftigen sich mit dem Studium der männlichen Keimdrüse der Vögel und diese wenigen in der Literatur vorliegenden Untersuchungen lassen alle den Teil der Samenbildung vermissen, der für ein genaues Studium derselben unbedingt erforderlich ist und jeder näheren cytologischen Betrachtung voranzugehen hat: die topographische Histologie. Nur durch die Aneinanderreihung der verschiedenen Stadien des

Samenbildungsprozesses ist es möglich, eine sichere Grundlage für die Kenntnis der cytologischen Vorgänge zu gewinnen.

Bemerkenswerte Ergänzungen zur neueren Bastardlehre haben die Versuche Polls mit Enten gebracht. Seine cytologischen Studien als Vervollständigung des Experiments geben Aufschluss über den interessanten Bau der männlichen Keimdrüsen bei Entenmischlingen, die je nach der systematischen Zusammengehörigkeit der reinartigen Eltern eine verschieden weit vorgeschrittene Entwicklungsstufe in ihrem Samenbildungsgewebe zeigen. Es war somit eine naheliegende Aufgabe, auch die Samenbildung der Entenstammformen zu untersuchen und miteinander zu vergleichen. Das Studium der Spermiogenese verschiedener Arten bietet ferner die Möglichkeit, auf die verwandtschaftliche Stellung der betreffenden Tierformen zueinander schliessen zu lassen.

Material und Methoden.

Als Material für die Arbeit dienten zum Teil bereits eingebettete Entenhoden, die mir Herr Prof. Poll in liebenswürdigster Weise zur Verfügung stellte, zum Teil wurden die Testikel frisch seziiert. Die Tiere erhielt ich durch das liebenswürdige Entgegenkommen Herrn Prof. Hecks und Herrn Dr. Heinroths, denen ich an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank aussprechen möchte, aus dem Berliner Zoologischen Garten. Zur Untersuchung gelangten die männlichen Keimdrüsen von Vertretern aller Gruppen der Anatiden, von den Anatinen der Stockerpel, *Anas boschas* L., Zwergerpel, *Anas boschas* L. var. *nana*, Hauserpel, *Anas boschas* L. var. *dom.* und Pfeiferpel, *Mareca penelope* L., von den Fuligulinen der Tafelerpel, *Aythya ferina* L., von den Plectopterinen der Brauterpel, *Lampronessa sponsa* L., und der Türkenerpel, *Cairina moschata* L.

Die aus den getöteten Tieren herauspräparierten frischen Testikel wurden in kleine Stücke zerlegt, um so ein besseres Eindringen der Fixierungsflüssigkeit zu ermöglichen. Es wurden angewandt die Gemische von Carnoy, Flemming 4 Teile Osmiumsäure, 15 Teile Chromsäure, 1 Teil Eisessig, Tellyesniczky 100 Teile 3proz. Kaliumbichromatlösung, 5 Teile Eisessig und Zenker.

Die Objekte wurden in der Carnoyschen Flüssigkeit 20 Minuten gelassen und dann sofort in Chloroform gebracht.

Die übrigen Flüssigkeiten mussten mindestens 24 Stunden einwirken. Nach der Fixierung wurden die Stückchen 24 Stunden in fließendem Wasser ausgewaschen, um dann nach der Entwässerung in den steigenden Alkoholstufen und Jodierung der Zenkerpräparate durch Alkohol-Chloroform und Chloroform in Paraffin eingebettet zu werden. Von den Objekten wurden nun Schnitte von 5–10 μ Dicke angefertigt und auf den Objektträgern aufgeklebt. Gefärbt wurden die Präparate hauptsächlich nach Heidenhains Methode mit Eisenhämatoxylin nach vorheriger Beizung mit Eisenalaun, die mit Flemmingscher Flüssigkeit fixierten Schnitte nach vorangegangener Bleichung mit Wasserstoffsperoxyd. Gute Resultate ergab die Nachfärbung der Zenker-Präparate mit Pikroindigokarmin-Magentarot nach vorheriger Färbung mit Eisenhämatoxylin. Die mit Tellyesniczky-scher Flüssigkeit behandelten Präparate wurden auch der Doppelfärbung Hämalaun-Safranin unterworfen, wie sie Regaud in seiner Arbeit angibt. Bei den Objekten, die mit dem Flemmingschen Gemisch fixiert waren, wurde ferner die Flemmingsche Dreifachfärbung mit Safranin-Gentianaviolett-Orange G und die Doppelfärbung Safranin-Lichtgrün angewandt, die den Vorteil hat, die bei Heidenhains Methode häufig eintretende Verklumpung der Chromosomen zu verhindern.

Materialübersicht.

1.	Anas boschas var. nana	Zenker
2.	Cairina moschata	Carnoy, Flemming
3.	337 Mareca penelope	fixiert am 4. 6. 09 Fl. Z. Tu.
4.	339 Lampronessa sponsa	" " 5. 6. 09 Fl. Z. Tu.
5.	362 Anas boschas var. dom.	" " 29. 10. 09 Fl. Z.
6.	392 " "	" " 22. 3. 10 Fl.
7.	430 Aythya ferina	" " 14. 5. 10 Fl. Z.
8.	704 Anas boschas	" " 25. 3. 12 Fl. T. Z.
9.	706 " "	" " 26. 3. 12 T. Z.
10.	712 " "	" " 23. 4. 12 Fl. C. T. Z.
11.	720 Lampronessa sponsa	" " 13. 5. 12 Fl. C. T. Z.
12.	721 Anas boschas	" " 13. 5. 12 Fl. C. T. Z.
13.	730 Cairina moschata	" " 5. 6. 12 Fl. C. T. Z.
14.	748 " "	" " 27. 7. 12 Fl. C. T. Z.

Anatomie und Histologie der Entenhoden.

Die männlichen Keimdrüsen der Enten weisen ebenso wie die aller übrigen Vögel einen beträchtlichen Grössenunterschied zwischen Winterruhe und Brunstzeit auf. Bald nach der Mauserzeit beginnt der auf seine Minimalgrösse gesunkene Testikel allmählich wieder an Grösse zuzunehmen, um dann zu Beginn des Frühjahrs plötzlich anzuschwellen und zur Brunstperiode im April-Mai sein maximales Volumen zu erreichen. Bereits einige Wochen später setzt die Mauser ein, und der Umfang des Hodens nimmt wieder ab. Was die Grössenverhältnisse der männlichen Keimdrüsen anbetrifft, so wurde Ende Februar noch eine Länge von 14 mm gemessen, Mitte Mai das Maximum von 51 mm. Doch sind diese Zahlen keineswegs als feststehende Regel anzusehen, da sie von den Individuen, der Lebenslage und der Witterung abhängig sind. Noch grösseren Schwankungen sind sie bei Hausenten unterworfen. Durch die günstigen Lebensbedingungen wird die Brunstzeit bedeutend verlängert, und die Keimdrüsen erreichen oft kolossale Dimensionen, wie Disselhorst und Mencl durch Messungen festgestellt haben.

Die Samenkanälchen werden von einer ziemlich derben Albuginea umschlossen, die ebenso wie das ganze Hodenparenchym von vielen Blutgefässen durchzogen ist. Interstitielles Bindegewebe, welches im Hodengewebe der Säuger in starker Ausdehnung zwischen den Tubuli auftritt, fehlt nahezu vollständig. Die einzelnen Samenkanälchen, die von einer dünnen Tunica propria, der kleine längliche Kerne eingelagert sind, umgeben sind, berühren einander direkt. Auf dieser Membran ruht nach innen das Keimlager. Dieses stellt auch bei den Enten ein Syncytium dar, in dem die samenbildenden Elemente eingebettet sind. Wie in den Keimdrüsen der übrigen Tiere lassen sich hier ebenfalls zwei Reihen von Zellgenerationen unterscheiden, die den nutritativen Teil darstellenden Sertolielemente und die eigentlichen samenbildenden Zellen als generativen Zweig. Der Reihenfolge nach liegen die verschiedenen Stadien der Keimzellenmetamorphose übereinander geschichtet. Die unterste Lage bilden die Spermiogonien, die oberste die Spermiden, dazwischen liegen Spermiocyten und Präspemiden. Das Samenbildungsepithel nimmt nahezu das ganze Innere des Röhrchens ein und lässt nur in der Mitte ein kleines von einer Flüssigkeit erfülltes Lumen als Ausgangsweg für die fertigen Spermien frei.

Bei mikroskopischer Betrachtung des Hodenparenchyms erkennt man, dass sich die Tubuli in den verschiedensten Entwicklungsstufen des Samenbildungsprozesses befinden. Selbst die einzelnen Kanälchen bieten in ihrem samenbereitenden Keimlager einen wechselnden Anblick dar. Bald hat das Epithel eine beträchtliche Höhe, wenn Spermiden die obersten Schichten bilden, bald zeigt es sich auffallend niedrig, wenn die werdenden Spermien sich zu Büscheln vereinigt haben und zwischen die Spermioocyten eingedrungen sind. So grenzen oft in demselben Tubulus zeitlich weit auseinanderliegende Stadien ohne Übergang in schmalen Sektoren aneinander, während sich z. B. bei den Fringilliden der ganze Testikel in derselben Entwicklungsphase befindet. In der Regel umfassen die Stadien mehr als eine Fascikulation, da man gewöhnlich zwei oder noch mehr Büschel auf derselben Entwicklungsstufe nebeneinander liegen sieht.

Topographische Histologie.

Diese verschiedenen Stadienbilder des Samenbildungsprozesses zu ordnen, uns mit der Anordnung der Zellformen im Keimlager bekannt zu machen, ist die Aufgabe der topographischen Histologie, die aus schon erwähnten Gründen den ersten Teil dieser Arbeit bilden muss. Darauf erst folgt die Cytologie der Samenbildung, welche die cytologischen Wandlungen der aufeinanderfolgenden Generationen und der einzelnen Zellen näher zu betrachten hat. Dieser Teil gliedert sich wieder in die Cytogenese und Spermiohistogenese. Während jene sich mit der Metamorphose der samenbildenden Elemente beschäftigt, untersucht diese die histologischen Umwandlungen der Spermiden zu den fertigen Spermien.

Wie Regaud zuerst in seiner Untersuchung über die Spermio-genese der Ratte genauer gezeigt hat, spielt sich der Samenbildungsprozess in einer Schraubenlinie ab, die um den Tubulus herumläuft. Um nun eine richtige Aufstellung der Stadienbilder der Samenbildungswelle zu erlangen, ist es nötig, genau quergetroffene Stellen aufzusuchen, die wegen des spiraligen Verlaufs der Spermio-genese und der stark gewundenen Kanälchen nicht gerade häufig sind. Die wechselnde Höhe, die verschiedene Dauer der einzelnen Stadien erhöhen die Schwierigkeiten, die quergetroffenen Stellen als solche zu erkennen. Würde sich die

Samenbildung in einer Ebene abspielen, so genügte das Aufsuchen quergeschnittener Tubuli, so aber sind diese keineswegs zuverlässig. Vielmehr können auch ebensogut schief oder längs geschnittene Röhrchen brauchbare Stellen zur Aufstellung der Generationsfolge liefern. Im allgemeinen sind die niedrigeren Schnitte den höheren der betreffenden Stelle vorzuziehen, doch erst ein Vergleich der Zellschichten der betreffenden Stelle miteinander und mit anderen aufgefundenen Stadienbildern lässt erkennen, ob der Schnitt für die topographische Histologie zu verwerten ist.

Regaud und danach Kirillov stellen in ihren Arbeiten zwölf Stadien auf, die zu einem Zyklus zusammengefasst werden. Um einen besseren Vergleich mit den Säugern zu ermöglichen, sind auch in dieser Untersuchung die von Regaud festgelegten Hauptpunkte beibehalten worden. Indes sind zur Erleichterung der späteren cytologischen Betrachtung noch einige Zwischenstadien eingeschaltet worden. Massgebend für die Anordnung der verschiedenen Phasen ist am zweckmässigsten die Spermiogenese und nicht, wie van Hoof es getan hat, der Entwicklungsgang der Spermiocyten, da die Umbildung der Spermiden ein viel sicheres Anordnen ermöglicht als die schwierigen Kernmetamorphosen der Spermiocyten. Nach dieser Art lassen sich die einzelnen Stadien entsprechend den einzelnen Entwicklungsstufen der Spermien leicht lückenlos zu einem Zyklus aneinanderreihen.

Als Ausgangspunkt für den Samenbildungsprozess soll, wie bei Regaud, der Augenblick dienen, in dem eine Generation reifer Spermien soeben das Samenepithel verlassen hat und eine neue im Begriff ist, sich aus den Spermiden zu entwickeln. Weitere besonders hervortretende Punkte sind die während des Zyklus auftretenden Teilungen der Spermiogonien, Spermiocyten und Präspemiden. Zunächst ist die topographische Histologie bei der Gattung *Anas* untersucht worden und dann vergleichsweise bei den übrigen Vertretern der Enten-Gattungen. Die den Samenbildungsprozess veranschaulichenden Zeichnungen sind keine Schemata, sondern entsprechen wirklichen Objekten.

Stadium 1 (Fig. 1).

Im 1. Stadium ist die Oberfläche des Epithels nahezu spermienfrei, da eine Generation fertiger Spermien eben das

Keimlager verlassen hat. Nur ab und zu sieht man noch vereinzelte zurückgebliebene Samenfäden zwischen oder über den Spermiden liegen. Aus der Häufigkeit und der Breite, in der dieses Stadium auftritt, lässt sich schliessen, dass es verhältnismässig lange währt. Es reicht von der Ausstossung der reifen Spermien bis zur Verdichtung des Chromatins in den Spermidenkernen. Safranophile Restkörperchen, wie sie bei der Ratte den ersten Stadien der Samenbildung ein so charakteristisches Aussehen geben, fehlen hier vollständig. Die oberste Schicht des Keimepithels bilden die in vier bis fünf Reihen gelagerten Spermiden. Häufig sind durch die hinausgeschleuderten Spermien einige an das Lumen grenzende Spermiden mitgerissen worden und liegen dann losgelöst über dem Epithel. Die dicht gelegenen abgerundeten polyedrischen Spermiden enthalten einen kugeligen Kern. In dem hellen Kernsaft sind nur wenige Chromatinbrocken sichtbar, von denen dünne Fäden zu der deutlich erkennbaren Kernmembran laufen.

Unter den Spermiden liegt in einer oder mehreren Reihen eine Generation Spermiocyten. Ihre Kerne befinden sich im Stadium der Synapsis, die ganze Chromatinmasse ist an einer Seite des Kernes zu einem dichten Knäuel zusammengeballt, aus dem nur vereinzelte dünne Fäden herausragen. In dem rundlichen Zellkörper liegt in der Nähe des Kernes das Idiozom.

Zwischen den Spermiocyten fällt der oft dunkel gefärbte Sertolikern durch seine unregelmässige Gestalt und den grossen Nucleolus, neben dem noch einige kleinere Brocken vorhanden sind, auf. Zuweilen sind noch die Reste der vom Sertolikern ausgehenden Fibrillen des syncytialen Plasmas, die während der Fascikulation hervorgetreten sind, zwischen den Spermiden sichtbar.

Zu unterst folgen schliesslich die wandständig gelagerten Spermiogonien, die nicht selten zwei Lagen bilden. Wie die Spermiden, so zeichnen sich auch die Spermiogonien durch die Chromatinarmut ihrer hellen blasigen Kerne aus. Nur wenige grössere Brocken machen den ganzen Chromatingehalt aus. Dünne, kaum sichtbare Lininfäden, die von diesen Brocken ausgehen, durchziehen den Kernraum. Der deutlich von dem umgebenden syncytialen Plasma abgegrenzte Zellkörper enthält das kugelige Idiozom.

Stadium 2 (Fig. 2).

Im 2. Stadium hat die histologische Umwandlung der Spermiden begonnen. In den bis dahin chromatinarmen Kernen haben sich starke Chromatinmassen besonders an der Peripherie abgesetzt. Durch wenige dünne Fäden sind sie mit einem meist zentral gelegenen Brocken verbunden. Einige Kerne zeigen bereits eine längliche Gestalt, während der Zellkörper gewöhnlich noch rundlich erscheint. Zuweilen sieht man auch hier noch über den Spermiden vereinzelte zurückgebliebene Spermien der letzten Generation.

Die Spermiocyten und die Spermiogonien haben keinerlei sichtbare Änderungen erfahren. Jene zeigen Kerne, deren Chromatinsubstanz wie im vorigen Stadium auf einer Kernseite zusammengezogen ist. Diese besitzen ihre hellen chromatinarmen Kerne.

Stadium 2a (Fig. 3).

Während bisher die Mehrzahl der Spermidenkerne die kugelige Gestalt beibehalten hatten, beginnen sie nunmehr fast ausnahmslos ihre Form zu verändern, indem sie sich in die Länge strecken. Aus diesem Grunde ist man berechtigt, die Spermien von jetzt an als Prospermien zu bezeichnen. Das Chromatin hat sich inzwischen weiter kondensiert, hinten und vorn vom Kern sind deutlich helle Bläschen sichtbar. Am hinteren Bläschen ist zugleich die von einem Centrosom ausgebildete Geißel erkennbar. Eine bestimmte Orientierung zeigen die Kerne dagegen noch nicht. Mit dem Kern hat auch das Cytoplasma eine längliche Gestalt angenommen.

In den Spermiocyten spielen sich während dieses Stadiums ebenfalls wichtige Vorgänge ab; ihre Kerne sind im Begriff, die Phase der Synapsis zu verlassen. Die teilweise noch einseitig gelagerte Chromatinsubstanz beginnt sich aufzulockern; dicke Fäden, die von dem Knäuel ausgehen, durchziehen den Kernraum. Der Zellkörper hingegen hat sich nicht verändert.

Im Gegensatz zu den oberen Schichten des Samenepithels deutet nichts auf eine gleich lebhaftige Tätigkeit in dem unteren Keimlager der Spermiogonien hin; höchstens weisen ihre Kerne eine geringe Grössenzunahme auf. Im Zellplasma fällt häufig das in der Nähe des Kernes gelegene Idiozom auf.

Zwischen den Spermiocyten eingebettet liegt der Sertoliekern in mannigfach gestalteter Form. Die Fibrillen des Sertoliplasmas sind völlig verschwunden.

Stadium 3 (Fig. 4).

Das Chromatin der Prospermienkerne, die länger geworden sind, zieht sich allmählich spiralig in die Länge. Mit der Streckung der Kerne ist auch eine weitere Dehnung des Zelleibes verbunden. Die Prospermien liegen jetzt nicht mehr regellos im Epithel, sondern zeigen bereits das Bestreben, sich in bestimmter Weise zu Büscheln anzuordnen. Das Vorderende wendet sich membranwärts dem zwischen den Spermiocyten gelegenen Sertoliekern zu, während die Geissel gegen das Lumen gerichtet ist.

In den Spermiocytenkernen ist die Aufknäuelung der Chromatinmasse nahezu vollendet. Zwar liegen die dicken Fäden zum Teil noch auf einer Kernseite etwas zusammengeballt, doch durchziehen sie zum grössten Teil auch schon die übrige Kernhälfte. Häufig sind sie von grösseren Chromatinbrocken unterbrochen. Im unveränderten Zellkörper sind zuweilen das Idiozom und die aus ihm herausgewanderten Centrosomen sichtbar.

Die Spermiogonien zeigen indes im Vergleich zum vorigen Stadium keinen sichtbaren Fortschritt in ihrem Entwicklungsgang. Unverändert liegen ihre hellen, chromatinarmen Kerne in ihrem Cytoplasma, in dem das Idiozom scharf hervortritt.

Stadium 3a (Fig. 5).

In diesem Stadium tritt die Fascikelbildung schärfer hervor. Das Aussehen der Prospermien selbst hat sich dagegen wenig verändert. Nur ihre Länge hat etwas zugenommen.

Die Kerne der Spermiocyten generation haben jetzt die Aufknäuelung ihrer Chromatinfäden vollendet. Die Fäden bilden ein lockeres Netz, dem mehrere gröbere Chromatinbrocken eingelagert sind. Der ziemlich grosse Zellkörper weist keine Strukturänderung auf.

In den Schichten der Spermiogonien zeigt sich noch keine Spur irgendeiner Veränderung. In den Kernen lässt sich keine Zunahme an Chromatinsubstanz wahrnehmen.

Unter den Spermiocyten tritt der noch indifferente, unregelmässig geformte Sertoliekern hervor.

Stadium 4 (Fig. 6).

Deutlich erkennbar ist in diesem Stadium die eigentümliche, regelmässige Anordnung der Prospermien zu der für die Enten charakteristischen Fascikelform. Während die oberen Prospermien senkrecht zur Röhrenwand stehen, liegen die unteren parallel zu ihr und bilden so die Basis des Fascikulationskegels. Befanden sich die Prospermien bisher über den Schichten der samenbildenden Zellen, so beginnen sie nun, die unter ihnen liegenden Spermio-cyten auseinander zu drängen, um zwischen sie einzudringen und sich dem Sertolikern zu nähern. In den Prospermienkernen hat sich die Chromatinmasse noch weiter spiralig ausgezogen. Klar tritt das hintere Bläschen, das kleiner geworden ist, hervor. Um einen richtigen Begriff von der grossen Anzahl der einen Fascikel bildenden Prospermien zu bekommen, sind in der Figur auch die nicht in der Ebene des Gesichtsfeldes gelegenen Prospermien, die noch zu dem Büschel gehören, gezeichnet. Die in der Zeichnung über dem rechten Büschel gelegenen, degenerierten Spermien können wegen ihres bedeutend fortgeschrittenen Stadiums nicht dem Fascikel angehören, sondern sind offenbar von umliegenden Stellen dorthin getrieben worden.

Wenig verändert haben sich die Spermio-cyten. In ihren Kernen sind die Fäden des lockeren Knäuels etwas dünner geworden. Neben einigen grösseren Chromatinbrocken sind mehrere, meist peripher gelagerte Körnchen vorhanden.

Gar nicht gewechselt hat das Aussehen der Spermio-cyten, derer Kerne noch immer eine spärliche Chromatinmenge enthalten.

Trotzdem die Fascikelbildung schon begonnen hat, deutet im syncytialen Sertoliplasma noch keine Strukturveränderung auf seine spätere Tätigkeit hin.

Stadium 5 (Fig. 7).

Die Chromatinmasse der Prospermienkerne ist kompakter und länger geworden, so dass jetzt mit Deutlichkeit der stabförmige Charakter des späteren Spermienkopfes hervortritt. Die unteren Prospermien haben sich mehr aufgerichtet und wenden ihre Spitze dem ihnen entgegengerichteten Sertolikern zu, dessen Längsachse nunmehr senkrecht zur Tunica popria steht. Das Sertoliplasma hingegen zeigt noch keine fibrillären Differenzierungen.

Die Spermioocytenkerne besitzen in diesem Stadium eine geringe Chromatinmenge. In dem dünnfädigen Netz des Kernraumes sind nur wenige grössere Brocken sichtbar.

Die Spermio gonien zeigen noch dasselbe Bild wie im vorigen Stadium.

Stadium 6 (Fig. 8).

Die Prospermien nehmen mehr und mehr das Aussehen fertiger Spermien an. Ihre Kerne kann man bereits als Kopf bezeichnen. Die kompakte Chromatinmasse, die die Gestalt eines vorn zugespitzten, mehrfach geknickten Stabes angenommen hat, erfüllt nahezu den ganzen Kernraum.

Die Kernmembran der Spermio cyten schliesst ein lockeres Netz dünnfädiger Lininfasern ein, denen mehrere kleine und grössere Chromatinpartikelchen aufgelagert sind. Umgeben wird der Kern von einem rundlichen, von dunklerem Plasma erfüllten Zellkörper, in dem das Idiozom und die Centrosomen eingebettet sind.

Wandständig liegen noch immer untätig die Spermio gonien, deren Kerne sich nicht verändert haben.

Stadium 7 (Fig. 9).

Die Prospermien haben ihre endgültige Länge erreicht, doch weisen zahlreiche Unebenheiten und Windungen der stabförmigen Chromatinmasse darauf hin, dass ihre Entwicklung noch nicht abgeschlossen ist. Je schmaler der Chromatinstab durch die Längenausdehnung wird, je kleiner wird auch das hintere Bläschen, an dem deutlich die Geisselwurzel zu unterscheiden ist. Gut erkennbar ist auch der die Prospermienkerne umgebende, langgestreckte Zellkörper. Die unteren Prospermien haben sich nahezu aufgerichtet, während die obersten, in der Mittelachse des Büschels liegenden tiefer hineingedrungen sind, so dass jene nunmehr die Spitze des umgekehrten Fascikelkegels bilden. Der zwischen den Spermio cyten gelegene Sertolikern deutet durch seinen häufig dunkelgefärbten Kernsaft auf eine erhöhte Tätigkeit hin. Die eine Seite des Kernes, die durch die syncytialen Fibrillen hervorgezogen ist, ist den Prospermien zugekehrt.

Die Schichten der Samenbildungszellen, der Spermio cyten und der Spermio gonien, zeigen dagegen nur geringfügige Veränderungen.

Die ganze Chromatinmasse der Spermiocytenkerne besteht aus etlichen Brocken, zwischen denen dünne Fäden das Kerninnere durchziehen. Um die Kerne hebt sich das rundliche, dunkle Cytoplasma von dem umgebenden Syncytium ab. Ähnlich beschränkt sich in den Kernen der Spermiogonien der Chromatinbestand auf einige grössere und kleinere Brocken, die durch dünne Fäden miteinander in Verbindung stehen. Im Zellkörper tritt scharf das runde Idiozom hervor.

Stadium 7a (Fig. 10).

Die Oberfläche der Prospermien, die man von nun an als Spermien bezeichnen kann, ist vollkommen glatt. Nur einige eckige Biegungen weisen auf ihre Unfertigkeit hin.

Die Spermiocytenkerne besitzen zwar noch ein Netz aus dünnen Fäden, aber die Chromatinbrocken haben sich bereits vermehrt. Die Spermiogonien haben etwas an Grösse zugenommen. Ihre Chromatinmasse ist ebenfalls reichlicher geworden, da sowohl in der Mitte, als auch am Rande des Kernes die Chromatinkörnchen zahlreicher geworden sind.

Stadium 8 (Fig. 11).

Wenn auch die Fascikulation noch nicht vollendet ist, so haben doch die Spermien ihre morphologische Ausbildung beendet und ihre endgültige Gestalt erreicht. Die langen stabförmigen Köpfe sind von dem in der Form ihnen angepassten vorn zugespitzten Zellkörper umschlossen. Am hinteren Ende des Kernes tritt häufig die Geisselwurzel hervor, während das hintere Bläschen nicht mehr sichtbar ist.

In den Spermiocytenkernen haben sich die Fäden reichlich mit Chromatin beladen und bilden nun dicke, stark färbbare Schleifen, die häufig von grösseren Chromatinbrocken unterbrochen werden. Der Zellkörper enthält das Idiozom und die zu den Polen wandernden Centrosomen.

Im Keimlager der Spermiogonien setzt während dieses Stadiums plötzlich eine lebhaftere Tätigkeit ein, die einer neuen Reihe von Samenbildungszellen den Ursprung gibt. Die Spermiogonien, die in den vorhergehenden Stadien keinerlei Anzeichen einer nahen Teilung gaben, sind in eine Mitose eingetreten, aus der eine neue Generation von Spermiocyten hervorgeht. Erst

kurz vor der Teilung zeigen sich in den Kernen Vorbereitungen dazu. Sie werden blasig aufgetrieben und an ihrer Oberfläche werden reichliche Chromatinmassen angesammelt. Dicht aneinandergedrängt liegen die Teilungsfiguren der Spermiogonien, die sich durch die Breite, die niedrige Polhöhe und den Chromatinreichtum ihrer Äquatorialplatten auszeichnen.

Zwischen den Spermiocyten liegt der oft dunkle Sertolikern, seine Längsachse den Spermien zugewendet. Im Sertoliplasma treten zuweilen die Fibrillen deutlicher hervor.

Stadium 9 (Fig. 12).

Die Fascikulation, die jetzt das für *Anas* typische Bild zeigt, hat nunmehr ihren Höhepunkt erreicht. Die Spermienbüschel sind weit ins Epithel bis zur untersten Lage der Spermiocyten eingedrungen. Die Spitze des Büschels berührt beinahe den ihnen entgegenrückenden Sertolikern, in dessen Umgebung Körnchen auftreten. Trotzdem die Spermien fertig ausgebildet sind, umgibt sie noch das langgestreckte Zellplasma.

In diesem Stadium sind zwei Generationen von Spermiocyten vorhanden. Die älteren Spermiocyten zeigen dicke Schleifen, die an einigen Stellen unterbrochen sind. Mehrere grössere Chromatinbrocken sind den Fäden angelagert. Die jüngere Spermiocyten-generation besitzt Kerne, die denen der Spermiogonien ausserordentlich ähnlich sind und nur durch ihre Grösse von diesen zu unterscheiden sind. Zentral sind ein oder mehrere grössere Chromatinbrocken gelegen, von denen dünne Fäden ausgehen.

Zwischen ihnen liegen die nicht in Teilung eingetretenen Spermiogonien mit ihren charakteristischen hellen Kernen.

Stadium 10 (Fig. 13).

Die reifen Samenfäden haben die Fascikel aufgegeben und zum Teil bereits das Epithel verlassen. Zur selben Zeit beginnen die Spermiocyten der alten Generation sich zu teilen, um in Präsperriden überzugehen. Ihre Mitosen besitzen nicht derartig chromatinreiche und niedrige Spindeln, wie die der Spermiogonien. Die jungen Spermiocyten besitzen Kerne, in denen sich das Chromatin erheblich vermehrt und auf einer Seite zusammengeballt hat. Sie befinden sich im Stadium der dichten Synapsis.

An der Wand liegen die Spermiogonien, deren Kerne sich nicht von denen des vorigen Stadiums unterscheiden.

Stadium 11 (Fig. 14).

Die Präpermiden haben nur eine überraschend kurze Lebensdauer. Sie teilen sich sofort wieder, um so Ersatz für die das Epithel verlassenden Spermien zu schaffen. Häufig folgt die zweite Reifeteilung so schnell der ersten, dass man beide unmittelbar nebeneinander findet. Die Spindel der Präpermidenteilung zeichnet sich durch ihre Höhe und Schmalheit aus. Zwischen ihnen liegen schon junge Spermiden. Über ihnen befinden sich die reifen Spermien, die das Epithel soeben verlassen haben und noch stellenweise die früheren Fascikel andeuten.

In den Kernen der Spermiocten hat sich die ganze Chromatinmasse auf einer Hälfte zu einem dichten Knäuel zusammengezogen.

Die Sertolikerne, die wieder in der untersten Lage der Spermiocten liegen, zeigen eine rundliche oder längliche Gestalt. Ihr Kernsaft ist zuweilen noch dunkelgefärbt.

Die Spermiocten hingegen lassen keine Veränderung im Kernraum erkennen.

Stadium 11a (Fig. 15).

Die reifen Spermien liegen jetzt fast in einer Reihe über dem Epithel. Teilweise sind sie noch von ihrem Zellkörper umgeben, in dem deutlich die runden Idiozome hervortreten. Im Samenepithel bildet nun die neuentstandene Spermidengeneration die obersten Schichten. Auf der rechten Seite der Zeichnung sind einige Präpermiden, die in ihrer Entwicklung zurückgeblieben sind und sich durch den grösseren Kern von den Spermiden unterscheiden lassen. Diese enthalten in ihrem polyedrischen Cytoplasma einen kugeligen hellen Kern mit nur wenigen Chromatinbrocken.

Die Kerne der Spermioctengeneration zeigen keinen sichtbaren Fortschritt in ihrer Entwicklung. Die ganze chromatische Substanz liegt in der einen Kernhälfte angehäuft. Zwischen ihnen liegt der häufig abgerundete ruhende Sertolikerne. Ganz überraschend schnell haben sich die Spermiocten zu einer abermaligen Teilung angeschickt. Auch hier beginnt die Vorbereitung dazu unmittelbar vorher. Die Teilungsfiguren gleichen vollkommenen des 8. Stadiums. Die Mitosen haben jedoch diesmal keine neue Spermioctengeneration zur Folge, sondern sie dienen nur der Vermehrung, da aus ihnen wieder Spermiocten hervorgehen.

Stadium 12 (Fig. 16).

Im letzten Stadium liegt die Generation der reifen Spermien über dem Epithel, im Begriff, sich vollends vom Zellkörper zu trennen und in das distale Ende des Samenröhrchens zu gelangen. Das als Restkörper zurückbleibende Cytoplasma mit dem Idiozom verschwindet bald danach über dem Epithel, so dass wir nunmehr wieder das Bild des 1. Stadiums haben, in dem die Spermiden mit ihren charakteristischen Kernen die oberste Lage des Keim-epithels bilden.

Die Spermioocyten befinden sich noch im Stadium der dichten Synapsis. In dem auf der Seite des Chromatinnetzes liegenden Zellplasma ist nicht selten das Idiozom sichtbar.

Die vermehrten Spermiogonien zeigen nach der Teilung wieder ihre typischen hellen Kerne mit den wenigen Chromatinbrocken.

Vergleich mit den übrigen Entengattungen.

Untersucht man die topographische Histologie der anderen Entengruppen, so zeigt sich, dass die einzelnen Stadien des Samenbildungsprozesses mit denen von *Anas* völlig übereinstimmen. Nur bei der Anordnung der Spermien in den Fascikeln treten geringe Unterschiede in der Form der Spermienbüschel auf. Je nachdem die Samenfäden alle nahezu parallel zueinander gelagert sind oder die seitlichen sich nicht vollständig aufrichten, lassen sich Fascikelkegel mit breiter und schmaler Basis unterscheiden. Bei *Anas* bilden die Spermien in der Regel einen kleinen Winkel miteinander, während sie bei *Cairina* (Fig. 17) sich mehr auseinander spreizen. Im Samenepithel von *Lampronessa* sind die Spermien in ähnlicher Weise wie bei *Anas*, zum Teil noch ausgesprochener, in schmalen Büscheln angeordnet (Fig. 20). Bemerkenswert ist, dass *Cairina* und *Lampronessa*, die systematisch zu derselben Gruppe der Anatiden, den Plectropterinen gehören, am meisten in der Form ihrer Büschelbildung auseinanderweichen. Die Fascikel von *Aythya* sind nicht vorwiegend nach einem Typus gebaut. Man findet sowohl Formen, in denen die Spermien sich in gleicher Weise wie bei *Cairina* auseinander spreizen, als auch solche, die an *Anas* und *Lampronessa* erinnern (Fig. 18 und 19).

Was die Zahl der zu einem Büschel vereinigten Spermien bei den verschiedenen Enten anbetrifft, so lässt sich ein Unterschied nicht feststellen, da sie selbst bei ein und derselben Art

je nach Zeit und Alter ausserordentlich schwanken. Zuweilen finden sich auch Fascikulationen, in denen einige Samenfäden in ihrer Entwicklung gegenüber den anderen zurückgeblieben sind, wie das rechte Spermienbüschel von Fig. 17 zeigt.

Vergleich mit den Säugern.

Vergleicht man den Samenbildungsprozess der Enten mit dem der Säuger, von denen beim Pferd, beim Stier und bei der Ratte auch die topographische Histologie berücksichtigt ist, so zeigen sich wesentliche Unterschiede. Bei den Enten bilden die Spermio gonien ein dichtes Lager an der Wand, so dass alle übrigen Zellen von hier verdrängt sind, während sie bei den Säugern nur vereinzelt zwischen den wandständigen Spermio cyten liegen. Die Spermio cyten der Enten durchlaufen den Zyklus mindestens anderthalbmal, während sie bei den Säugern sicher während zweier Zyklen existieren. Die Sertolikerne, die bei der Ratte fast immer an der Membran liegen, sind bei den Enten zwischen den Spermio cyten eingebettet. Infolgedessen dringen auch die Spermienbüschel nicht so tief ins Epithel wie bei der Ratte.

Cytologie.

I. Cytogenese.

Sertolielemente.

Übereinstimmend mit den Samenepithelien anderer Tiere finden sich in denen der Enten Kernelemente im Plasmasyncytium eingebettet, die von keinen fest abgegrenzten Plasmabezirken umgeben werden und als Sertolielemente bezeichnet werden. In der Regel lassen sich die Sertolikerne leicht von den übrigen Kernen unterscheiden. Kennzeichnend sind sie sofort an ihrer unregelmässigen Gestalt, die besonders zur Brunstzeit sehr variabel ist und sich den stark vermehrten samenbildenden Zellen anpassen muss. Nicht selten sieht man daher zu dieser Zeit Sertolikerne so dicht anderen Kernelementen anliegen, dass sie den Anschein erwecken, als ob beide aus einem gemeinsamen Mutterkerne entstanden sind. Diese Erscheinung beruht jedoch nur auf der Plastizität des Sertolikernes, der zwischen den Samenbildungszellen eingezwängt ist. Sind die Zellen weniger dicht zusammengedrängt, so nimmt er eine nahezu kugelige Form an, wie sie besonders bei *Lampronessa* beobachtet ist. In diesen Fällen ähnelt er sehr den

Spermiogonienkernen und lässt eine gemeinsame Herkunft als wahrscheinlich annehmen. Oft weisen die Sertolielemente Einschnürungen und Einbuchtungen auf, als wenn sie sich amitotisch teilen wollten.

Das von einer deutlichen Membran umschlossene Kerninnere enthält gewöhnlich ein, seltener zwei oder drei grosse Kernkörperchen, die sich mit Safranin leuchtend rot färben. Von diesem Nucleolus, der von einem unregelmässig gestalteten Hof umgeben ist, durchziehen dünne, schwach färbbare Fäden den Kern. Zuweilen bemerkt man ausser dem grossen Brocken noch einige kleine centrosomenähnliche Körnchen. Während der Fascikulation zeigt der Sertolikern häufig einen dunkelgefärbten Kernsaft, als ob irgend eine Substanz durch die Membran diffundiere. In seiner Umgebung werden grössere und kleinere Körnchen im syncytialen Plasma von der Wand bis zu den Spermienköpfen sichtbar. Zugleich nimmt das Plasmasyncytium eine fibrilläre Struktur an. Die Spermienköpfe nähern sich dem Sertolikern, der dabei eine längliche Gestalt annimmt. Die Sertolikerne liegen zur Brunstzeit bei den Enten nicht an der Wand, sondern aus dem dichten Keimlager der Spermiogonien sind sie zwischen die Spermiozyten gedrängt worden. Ihre Ortsveränderung ist nur eine geringe. In den Fascikulationsstadien richten sie sich auf und nähern sich etwas den Spermien, die schmale Seite des länglichen Kernes parallel zur Wand.

Spermiogonien.

Die unterste Schicht des Samenbildungsepithels wird von den Spermiogonien eingenommen. In einer oder mehreren Reihen eng nebeneinander gelegen, bilden sie ein dichtes wandständiges Lager, so dass alle anderen Zellen von der Membran ab ins Innere des Tubulus hineingedrängt werden.

Von all den übrigen im Hoden befindlichen Zellformationen ändern sie am wenigsten ihr Aussehen. Zwei Spermiogonientypen, die Regaud bei der Ratte beschreibt, die Spermiogonien mit staubförmigen Kernen, „à noyaux poussièreux“ und mit krustenförmigen Kernen „à noyaux croûteux“ gibt es bei den Enten nicht. Vielmehr zeigen die Spermiogonien fast während des ganzen Zyklus Kerne von kugelig oder ellipsoider Gestalt mit spärlichem Chromatingehalt; in dem hellen, kaum färbbaren Kern-

raum sind gewöhnlich mehrere gröbere chromatische Brocken sichtbar, die durch feine anastomosierende Lininfäden miteinander und mit der Kernmembran verbunden sind. Peripherisch sind oft noch zahlreichere kleinere Körnchen gelegen. Nicht selten sind die Spermiogonienkerne in ähnlicher Weise wie die Sertolielemente eingebuchtet oder eingeschnürt. In seltenen Fällen findet man sogar neben einem normalen Spermiogonienkern eine kleine Kernform, die anscheinend von dem grossen abgeschnürt ist.

Erst kurz vor den Mitosen, deren zwei während des Zyklus existieren, treten sichtbare Veränderungen im Innern des Kernes auf. Die erste Teilung im Lebenslaufe der Spermiogonien findet während der letzten Stadien der Spermiogonienogenese statt. Es geht aus ihr keine differente Zellgeneration hervor, sondern sie dient augenscheinlich der Vermehrung derselben Zellelemente. Zunächst tritt im Kern eine Volumenvergrösserung und eine Vermehrung der Chromatinsubstanz, besonders der an der Kernwand gelegenen Körnchen ein. Der Kern wird blasig aufgetrieben und nimmt meist eine ausgesprochen ellipsoide Gestalt an. Die Chromatinmassen vereinigen sich zu Chromosomen, die an die Kernoberfläche gerückt, als gebogene Stäbchen von verschiedener Länge in der Prophase zu finden sind. Zuweilen stösst man auf Kerne, deren Chromosomen stark verklumpt sind und offenbar als Degenerationerscheinungen gedeutet werden müssen, nicht als Kunstprodukte, da sie neben tadellos erhaltenen Zellen vorkommen (Fig. 40).

Nach Auflösung der Kernmembran und Bildung der Spindelfasern ordnen sich die Chromosomen zur Äquatorialplatte an, die für die Spermiogonien ein ganz typisches Aussehen besitzt. Vom Pol aus gesehen bietet die Äquatorialplatte gewöhnlich den Anblick einer homogenen, durch Eisenhämatoxylin stark färbbaren Grundmasse, aus der die darin eingebetteten Chromosomen über den Rand hervorragen (Fig. 42). Von der Seite aus betrachtet fällt die Spindel im allgemeinen durch ihre Breite und ihre geringe Centrosomendistanz auf. Auch wenn die Äquatorialplatten durchsichtiger sind, was häufig der Fall ist, kann eine Zählung der Chromosomen wegen der dichten Lage derselben und der zahlreichen Verbindungsfäden nur eine annähernde sein. In den meisten Fällen ist sie aber völlig ausgeschlossen. Die günstigsten Bilder bieten die Spermiogonienplatten von *Lampromessa*, in denen

die Chromosomen deutlicher gesondert hervortreten. Erschwerend für die Zählung ist ferner das Auftreten bläschenförmiger, nicht chromatischer Körnchen während des Teilungsvorganges. Besonders gut sind diese wieder bei *Lampromessa* zu beobachten. Vielleicht sind sie bei der Karyokinese nicht ganz unbeteiligt, da sie häufig paarweise angeordnet sind und zuweilen mit der Spindel in Verbindung zu stehen scheinen (Fig. 48). Die Anzahl der Chromosomen beläuft sich ungefähr auf 16. Das gilt in bemerkenswerter Weise für alle untersuchten Formen. Die Grösse der Äquatorialplatten schwankt in nicht geringem Grade. Ebenso unbeständig ist ihre Lage zur Tubuluswand. Die Ebene der Platte kann parallel, senkrecht oder geneigt zu ihr stehen.

Zu Beginn der Anaphase sind häufig nachschleppende Chromosomen zu beobachten, die mit Teilen ihres Leibes aus dem Gros der Tochterchromosomen hervorragend, den zurückgelegten Weg kennzeichnen. Haben die Chromosomen die Centrosomen erreicht, so beginnt alsbald der Zellkörper sich zu teilen. Die Tochtersterne, die von oben betrachtet das Aussehen kleiner Teilungsplatten haben, sind noch lange durch Fasern miteinander verbunden. Nach der Einschnürung des Cytoplasmas sieht man oft an der Berührungsstelle das Flemmingsche Zwischenkörperchen, von dem die Reste der Spindelfasern nach den Polen hin divergieren.

Die Chromatinmasse der Tochterkerne beginnt sich nun allmählich aufzulockern, währenddessen sich eine Kernmembran bildet. Zunächst hat der Kern eine nierenförmige Gestalt. Bald jedoch nimmt er eine kugelige Form an. Die dicken Chromatinfäden werden allmählich dünner und nicht lange nach der Mitose haben die jungen Kerne wieder ihre normale Grösse erreicht und zeigen dann ihr typisches chromatinarmes Aussehen, wie es eingangs geschildert wurde. Zuweilen begegnet man kleinen dunkelgefärbten Spermiogonienkernen, die wahrscheinlich anormale Erscheinungen darstellen (Fig. 53).

So bleibt der Kern während des ersten Stadiums unverändert im Keimlager, um erst kurz vor der während des 5. Stadiums stattfindenden zweiten Teilung Vorbereitungen zu dieser Mitose zu treffen. Diese gehen in der gleichen Weise vor sich wie bei der vorherigen. Auch dieser Teilungsvorgang bietet genau dieselben Bilder wie der im 12. Stadium. Prophasen so-

wohl als auch Metaphasen und Telophasen beider Spermiogonienmitosen lassen sich nicht voneinander unterscheiden. In derselben Art rücken die Chromosomen der 2. Teilung zu den Polen, wo sich ebenso kleine nierenförmige Kerne bilden. Doch sind diese keine Spermiogonien mehr, sondern junge Spermiocten.

Was den Zellkörper der Spermiogonien anbetrifft, so lässt sich meist deutlich um den Kern ein bestimmter Plasmabezirk, der sich gegen das umgebende syncytiale Plasma durch eine dünne Membran abgrenzt, erkennen. Entsprechend dem Kern besitzt der Zelleib, der ausser diesem noch das Idiozom umschliesst, eine kugelige oder längliche Gestalt.

Spermiocten.

Die aus der letzten Spermiogonienteilung hervorgegangene Zellform sind die Spermiocten, deren Kerne im Gegensatz zu denen der Spermiogonien den verschiedensten für die Cytologie wichtigen Veränderungen unterliegen. Nur ganz im Anfang ihres Entwicklungsganges liegen sie an der Wand des Röhrchens. Bald aber werden sie von den Spermiogonien ins Innere gedrängt und befinden sich dann nur noch ausnahmsweise in wandständiger Lage.

Der Lebenslauf der Spermiocten gleicht zunächst völlig dem der Spermiogonien; die kleinen nierenförmigen Kerne der jungen Spermiocten, in denen häufig noch Spindelreste sichtbar sind, runden sich ab. Die Chromatinmassen verschwinden bis auf einige gröbere Brocken, von denen dünne Fäden ausgehen; sie haben das Aussehen eines typischen Spermiogonienkernes. Wie oft sie in dieser Gestalt den Zyklus durchlaufen, lässt sich daher bei der Übereinstimmung der Spermiogoniengenerationen untereinander einerseits und mit den Anfangsstadien der jungen Spermiocten andererseits natürlich nicht bestimmen.

Deutlich kenntlich als Spermiocten werden sie erst, wenn sie beginnen, sich ihrer endgültigen Grösse zu nähern. Sie besitzen dann zwar noch einen spermiogonienähnlichen Kern, der sich aber durch seine Grösse und kugelige Gestalt von jenen unterscheidet. Die chromatische Substanz besteht aus wenigen meist zentral gelegenen Brocken, von denen einige ausserordentlich feine Fäden den Kern durchziehen. Bald jedoch beginnt sich die Chromatinmasse zu vermehren, die Körnchen werden zahlreicher und die eine Kernhälfte erscheint dunkelgefärbt. Auch

die Fäden vergrössern ihre Anzahl und sind mit vielen kleinen sphärischen Körperchen beladen. Eine immer weiter fortschreitende Kondensierung kleiner Chromatinpartikelchen und einseitiger Zusammenballung des ganzen Gerüstwerkes führt zum Stadium der Synapsis.

Diese tritt deutlich in zwei Erscheinungsformen auf. In dem zusammengezogenen Klumpen ist zunächst ein dünnfädiges Gerüst, zwischen dem kleinere und grössere Chromatinbrocken dicht gelagert sind, gut sichtbar. Vereinzelte feine Fäden ragen aus der Masse heraus oder laufen zur gegenüberliegenden Seite des Kernes, wo sie sich mit einem Fusspunkte festzuheften scheinen. Nicht selten liegen dabei zwei dünne Fäden dicht nebeneinander. Allmählich verschwinden die einzelnen Brocken und legen sich den Fäden an. In dem einseitig gelegenen Knäuel verlaufen dicke Fäden, von denen einige zur anderen Kernseite ziehen. Häufig bemerkt man zwei Fäden, die dicht nebeneinander liegen und deren Enden verknüpft sind oder solche, die umeinander geschlungen sind. Oft gewähren die heraustretenden Fäden daher ein rosenkranzartiges Aussehen oder zeigen durch direkte Aufspaltung eine Doppelnatur. Unwahrscheinlich ist die Annahme Loiseles, dass eine direkte Teilung der Chromatinmassen während der Synapsis stattfindet. Die Bilder, die er als solche deutet, sind zwei synaptische Kerne, die lediglich durch die opponierte Lage ihrer Chromatinknäuel einen derartigen Anschein erwecken. Eine Kernmembran ist während des ganzen Synapsisstadiums zu beobachten.

Schwierig zu entscheiden ist die Frage, ob die Synapsis eine natürliche Erscheinung der Spermiozytenkerne oder eine Folge der Fixation ist. Wenn sie auch den Anschein eines Kunstproduktes macht und vielleicht auch ist, so bleibt sie doch ein charakteristisches Stadium der Spermiozytenlaufbahn. Die Retraktion des Chromatins ist in Präparaten aller angewandten Fixationsflüssigkeiten sichtbar, wenn auch nicht immer in gleicher Stärke. In dem mit dem Flemmingschen Gemisch fixierten Material tritt sie sowohl am Rande als auch in der Mitte des Schnittes in gleicher Dichte auf. Hingegen findet sie sich nicht in einem in derselben Flüssigkeit fixierten Stückchen vom Rattentestikel. Während der Synapsis liegt der Kern exzentrisch in seinem Cytoplasma. Auf derselben Seite wie die zusammengeballten

Chromatinmassen liegt auch das dunkle Zellplasma. In diesem sind häufig das Idiozom und die aus ihm herausgetretenen Centrosomen sichtbar. Wenn auch die „Centrotaxie“ die Regel bildet, so können die Centrosomen und das Idiozom zuweilen auf der entgegengesetzten Kernseite liegen. Das meist kugelige Idiozom, das von einem helleren Plasmabezirk umgeben ist, erscheint nicht selten eingeschnürt.

Im dritten Stadium des Zyklus beginnen die dickfädigen Knäuel, die ungefähr dem amphitänen Stadium van Hoofs entsprechen dürften, sich zu lockern. Zahlreichere Fäden durchziehen den Kernraum und bilden das „Bukett-Stadium“, in dem die einseitig gelagerte Chromatinmasse nur noch gering ist. Bald ist auch diese kleine Ansammlung verschwunden und der Spermiozytenkern bietet nunmehr den Anblick eines lockeren dickfädigen Netzes dar, dessen Mittelpunkt zuweilen ein grösserer Chromatinbrocken bildet. Dieser entspricht offenbar dem von Regaud bei der Ratte beschriebenen Lenhossekschen Körper. Eine Grössenzunahme des Kernes, der nunmehr wieder zentral im Zellkörper liegt, findet während dieser ganzen Entwicklung der Spermiozyten nicht statt, da sie schon in den spermiogonienähnlichen Formen zu ihrer definitiven Grösse heranwachsen.

Das lockere Knäuel, in dem oft der Doppelcharakter der Fäden sichtbar ist, wird allmählich chromatinärmer, die Fäden werden dünner und schliesslich ist nur noch ein feines Netz vorhanden, in dem ein grösserer Brocken und mehrere kleinere Körnchen sichtbar sind. Erst nach und nach werden die Fäden wieder chromatinreicher. Die Körnchen werden erheblich vermehrt, dann treten wieder dicke Fäden auf, die in langen Schleifen den Kern durchziehen. Die Spermiozyten sind in das „Spiremstadium“ eingetreten. Deutlich tritt häufig noch der grosse Chromatinbrocken hervor. Bald zerfällt das kontinuierliche Knäuel in einzelne Stücke; diese werden kürzer und dicker, bis endlich der Kern ungefähr acht ring- oder α förmige kurze Schleifen enthält. Der Spermiozytenkern bereitet sich zu seiner Teilung vor. Durch weitere Verkürzung der Enden kommt es zur Bildung der Tetraden, die sich nach der Auflösung der Kernmembran zur Äquatorialplatte anordnen. Bevor die Membran aufgelöst ist, lassen sich manchmal in der Prophase Kerne beobachten, in denen die Tetraden an zwei Seiten des Kernes zusammengeballt sind.

Die Teilungsspindel der Spermioocyten lässt sich immer von der der Spermiogonien aufs deutlichste unterscheiden. Im allgemeinen sind die Äquatorialplatten nicht so breit und die Entfernung der Centrosomen ist grösser als bei den Spermiogonien. Wenn auch die Spermioocytenplatte in seltenen Fällen eine ungewöhnliche Breite erreichen kann, so lässt sie sich doch niemals vom Centrosom aus gesehen mit der Spermiogonienmitose verwechseln. Deutlich tritt hier die scharf abgesetzte Gestalt der Chromosomen hervor, die zwar häufig durch die Färbung mit Eisenhämatoxylin verklumpt sind, zuweilen aber doch erkennbar in der reduzierten Anzahl, ungefähr acht, vorhanden sind. Ihre Gestalt und Grösse variiert sehr. Nicht selten besitzen sie noch Ringform, oft bilden sie zu Tetraden vereinigte Gruppen oder kurze gedrungene Stäbchen. Ausser besonders grossen Chromosomen fallen häufig kleine staubförmige Chromatinkörnchen in der Platte oder der Spindel auf. In manchen Teilungsfiguren ist eine abseits von der Platte liegende Tetrade zu beobachten.

Nicht selten finden sich anormal gebaute Spindeln. Neben den schon erwähnten ungewöhnlich breiten Äquatorialplatten finden sich auch mehrpolige Spindeln oder ausser der Hauptspindel eine kleine Nebenspindel, die eine ungleichmässige Verteilung des Chromatins bewirkt. Dem Zuge der Spindelfasern entsprechend, trennen sich die gepaarten Chromosomen offenbar quer und wandern zu den Polen, nicht in gleicher Geschwindigkeit, sondern in der Regel bemerkt man nachschleppende Chromosomen. Gewöhnlich zeigen sie während des Auseinanderrückens eine bohnenförmige Gestalt. Zuweilen lässt sich erkennen, dass sie sich aus zwei Teilen zusammensetzen. In der Telophase mancher Zellen lässt sich ebenfalls die Anzahl acht nachweisen. An den Polen sammeln sich die Chromosomen zu Klumpen, die noch durch Spindelfasern miteinander verbunden sind. Die Einschnürung des Zellkörpers und die Bildung der Kernmembran vollendet dann die erste Reifeteilung, die auch als heterotypische bezeichnet wird. Veränderungen am Cytoplasma lassen sich im letzten Teile der Spermiocytenentwicklung kaum bemerken. In der Regel ist es ziemlich dunkel gefärbt, nur während der Mitose erscheint der Zellraum meist heller. Neben dem Kern ist oft das kugelige Idiozom sichtbar. Bisweilen kann man auch die zu den Polen wandernden Centrosomen beobachten. Bei den Teilungsvorgängen

liegt es ausserhalb der Spindel, ohne die geringsten Andeutungen einer Einschnürung zu zeigen. Von abseits liegenden Chromosomen unterscheidet es sich durch seine Färbung. Färbt man nämlich die Schnitte mit Hämalaun-Safranin, so färbt sich die chromatische Substanz mit Safranin leuchtend rot, während sich das Idiozom mit Hämalaun violett färbt.

Präpermiden.

Die aus den Spermiocyteinteilungen hervorgegangenen Tochterzellen sind die Präpermiden, auch Spermiocyten zweiter Ordnung oder von Ebnersche Zellen genannt. Sie sind durch eine ausserordentlich kurze Lebensdauer ausgezeichnet. In der Regel kann man ihre Mitosen bereits dicht neben den Spermiocyteinteilungen finden. Sobald sich in den Spermiocytenelophasen die Kernmembran gebildet hat, beginnt sich die am Centrosom gelagerte Chromatinmasse in dem jungen Präpermidenkern zu verteilen. Zunächst durchziehen nur einige Fäden den Kern, so dass ähnliche Bilder wie bei der Spermiocytensynapsis entstehen. Dann verschwindet die chromatische Substanz, bis sie nur aus einigen gröberen Brocken besteht, von denen dünne Fäden auslaufen. Die Kerne unterscheiden sich nur durch die geringere Grösse von dem entsprechenden Stadium der Spermiocyteneneration. Darauf beginnen sich im Kern die Chromosomen herauszudifferenzieren. Erst werden die Brocken grösser und zahlreicher, dann erscheinen Stäbchen, die sich bisweilen in ähnlicher Weise wie in den Spermiocytenprophasen auf einer Kernseite zusammenballen.

Nunmehr ordnen sich die Chromosomen nach Auflösung der Kernmembran zur Äquatorialplatte der zweiten Reifeteilung oder homöotypischen Mitose. Die Teilungsfigur ist leicht durch ihre Kleinheit und ihre Chromatinarmut von den anderen zu unterscheiden. Der Abstand der Centrosomen der Spindel ist im Verhältnis zur Breite der Platte höher als bei den übrigen Mitosen. Vom Centrosom aus betrachtet, zeigen sich die Chromosomen weniger verklumpt. Oft lassen sich mit Sicherheit acht Chromosomen erkennen, die durch dünne Fäden miteinander verbunden sind. Wie bei den Spermiocyteinteilungen lassen sich auch hier mehrpolige Spindeln beobachten (Fig. 150).

Die Chromosomen spalten sich augenscheinlich der Länge nach, um nach den Polen zu wandern. Nach der Trennung der

gepaarten Chromosomen nehmen sie eine nahezu kugelige Gestalt an. Eine nochmalige Reduktion der Chromosomen, wie z. B. Guyer annimmt, ist unwahrscheinlich. Zwar lassen sich Telophasen beobachten, in denen nur vier Chromosomen, in der einen Hälfte zuweilen fünf sichtbar sind. Bei näherer Betrachtung zeigt sich aber gewöhnlich, dass diese sich aus zwei Teilen zusammensetzen. Nicht selten sind auch hier nachschleppende oder abseits liegende Chromosomen vorhanden. Bei den Centrosomen angekommen, verliert sich bald die Form der Chromosomen. Beide Chromatinmassen stehen noch durch die Spindelfasern miteinander in Verbindung, die auch noch nach der Teilung des Cytoplasmas sichtbar sind.

Im Zellkörper treten kaum wesentliche Veränderungen auf. Das Cytoplasma ist dicht und dunkel färbbar, während der Teilung ist es wieder hell. In zwei nebeneinander liegenden Zellen, die aus einer Spermiocyte hervorgegangen sind, kann man noch lange nach der Teilung Reste der Spindelfasern sehen. In dem Berührungspunkte beider Zellen, in dem die Fasern durch die Teilung des Zellkörpers zusammengeschnürt sind, ist das Flemmingsche Zwischenkörperchen zu beobachten. Selbst wenn der Kern schon chromatinarm erscheint, zeigen sich noch Reste der Teilungsspindel und des Zwischenkörperchens in Form einer kleinen Spindel. Dieses tritt auch während der Einschnürung des Zellkörpers der Präpermiden auf. Im Zelleib ist häufig das Idiozom zu erkennen. Bei der Präpermidenmitose ist es zuweilen neben der Spindel sichtbar, ohne dass eine Teilung desselben beobachtet werden konnte. Im Zellplasma ist noch nach der Auflösung des Kernchromatins der Pol der Spermiocyteilungsspindel sichtbar, indem von ihm ein oder zwei stärkere färbbare Fäden ausstrahlen. So wie die Spindelreste ist auch diese Erscheinung fast während der ganzen Lebensdauer der Präpermiden ein Beweis für ihren schnellen Entwicklungsgang.

Spermiden.

Aus der zweiten Reifeteilung sind die Spermiden, die letzte Generation des Samenbildungsprozesses, entstanden. In ähnlicher Weise wie bei den Präpermiden zeigt der kleine Kern nach Bildung der Kernmembran ein Aussehen, das an die Synapsis erinnert, indem die Chromatinmasse in einer Kernhälfte angehäuft

ist und nur einige Fäden herausragen. Bald wird der Kern etwas grösser und chromatinärmer. Zunächst durchziehen noch dickere Fäden den Kernraum, dann verschwinden auch diese. Der ganze Chromatinbestand des Spermidenkerns setzt sich nunmehr aus wenigen Brocken, die durch dünne Fäden verbunden sind, zusammen. In dieser typischen Gestalt bilden sie in vier bis fünf Reihen gelagert in den letzten und ersten Stadien des Zyklus die oberste Schicht des Samenepithels und geben diesem das charakteristische Aussehen. Der Zellkörper ist rundlich, bei dichter Lage auch polyedrisch. In dem dunklen Zellplasma ist das bläschenförmige Idiozom sichtbar. Bisweilen sind noch von der Teilung her die von den Centrosomen ausgehenden Plasmafäden vorhanden, die dann den Anschein erwecken, als ob die Geisselbildung bereits begonnen hat. Durch ihre Kleinheit sind die Spermiden leicht von den übrigen Zellelementen zu unterscheiden. In manchen Tubuli findet man neben normal gestalteten Spermiden solche, die nahezu doppelt so gross sind. Offenbar gehen diese Riesenformen aus den vorhin erwähnten anormalen Mitosen hervor.

2. Spermiohistogenese.

Um ihre Aufgabe, das Ei zu befruchten und die väterliche Erbmasse zu übertragen, erfüllen zu können, müssen die Spermiden nun jene Umwandlungen durchmachen, die ihnen die für eine aktive Bewegung geeignete Organisation verleiht. Diese histologischen Veränderungen, die die Ausbildung fertiger Spermien aus den Spermiden zum Ziele haben, bilden den Teil der Samenbildung, den man als Spermiohistogenese bezeichnet.

Die erste Veränderung, die man in den Spermidenkernen im 2. Stadium wahrnimmt, ist eine deutliche Vermehrung der Chromatinsubstanz. Besonders an der Peripherie des Kernes treten erhebliche Chromatinmassen auf, von denen Fäden zu einem zentral gelegenen Brocken laufen. Der Zellkörper besitzt zuweilen schon eine längliche Form. Im Cytoplasma tritt häufig das Idiozom hervor. In den nächsten Stadien beginnt der bis dahin kugelige Kern eine längliche birnenförmige Gestalt anzunehmen. Durch eine Einbuchtung erhält er dann ein mehr nierenförmiges Aussehen. An dieser Einbuchtung hat sich nahezu die ganze Chromatinmasse zu einem grossen Brocken konzentriert, während der übrige Kernraum fast völlig frei von chromatischer

Substanz ist und nur von einigen Fäden durchzogen wird. Das Chromatin zieht sich allmählich als kurzer Stab in den schmaleren Kernteil, der später zum vorderen Ende des Spermienkopfes wird, indes ein kleinerer Teil auch die Seiten der breiteren Hälfte bedeckt. Zu gleicher Zeit umwächst die Chromatinmasse ringförmig den Umfang des Kernes. Dadurch entsteht der Einbuchtung gegenüber eine zweite, so dass der Kern nunmehr eine 8 förmige Gestalt besitzt und in eine hintere und eine vordere Hälfte zerfällt. Inzwischen hat sich am hinteren Teil in dem gleichfalls verlängerten Zellkörper die Geisselwurzel gebildet. Deutlich lässt sich erkennen, dass sie ihren Ursprung von einem Centrosom nimmt. Zuweilen erscheint es, als ob durch den hinteren Kernraum ein dünner Faden nach diesem Punkte läuft. In ihrer jetzigen Gestalt kann man die Zellen bereits als Prospermien bezeichnen.

Während die Kerne nun anfangen, eine bestimmte Orientierung zu zeigen, verlängert sich die vordere Hälfte weiter und wird dabei schmaler, die hintere dagegen vergrößert sich nicht und ist fast völlig von Chromatin entblösst, so dass sie einen bläschenartigen Charakter erhält. Bei fortschreitender Verlängerung der vorderen Kernhälfte zieht sich die Chromatinmasse spiralig in die Länge. Einbuchtungen der Kernmembran bezeichnen die verschiedenen Stufen dieser Spiralwindungen. Am vorderen Ende ist gewöhnlich ein helles Bläschen wahrzunehmen; ebenso besitzen die anderen abgeteilten Kernräume einen hellen Kernsaft. Das hintere Bläschen, das einem Chromatinbrocken anliegt, ist hingegen bedeutend kleiner geworden. Ihm liegt jetzt auch das Centrosom mit der Geisselwurzel an. Die chromatinfreien Teile des Kernes werden von feinen Fäden durchzogen. Das in Fig. 194 abgebildete Prospermium zeigt anormal aufgeblasene Kernabschnitte. Je weiter sich der Kern in die Länge streckt, je schmaler wird er. Die Chromatinmasse folgt dieser Längsausdehnung, lässt aber immer noch helle Kernräume frei. Von der vorderen Spitze der Chromatinspiralen sieht man nicht selten einen langen dünnen Faden entspringen, dessen Ende etwas verdickt erscheint. An diesem Achsenfaden, der offenbar den ganzen Prospermienkopf durchzieht und vielleicht auch mit der Geissel in Zusammenhang steht, gleitet das langsamer folgende Chromatin entlang.

Bald ist die Längsstreckung des Kernes soweit vorgeschritten, dass nahezu der ganze schmale Kernraum von der Chromatinmasse erfüllt wird. Diese erscheint nunmehr als homogener Stab, der zwar noch Knicke und Vorsprünge aufweist, aber doch schon die zukünftige Gestalt des Spermienkopfes erkennen lässt. Am vorderen Ende ist sie meist umgebogen; am hinteren Bläschen, das ausserordentlich klein geworden ist, hat sich die Geissel weiter entwickelt. Wenn der Kern endlich seine definitive Länge und Breite erreicht hat, so werden die Biegungen des Chromatinstabes geringer. Der freie Kernraum verschwindet mehr und mehr. Am hinteren Ende des Kopfes, das stecknadelkopffartig verdickt ist, lässt sich noch das winzig kleine hintere Bläschen erkennen.

Allmählich verschwinden die Knicke und die Unebenheiten der Oberfläche vollständig und der ganze Kernraum ist mit der Chromatinsubstanz ausgefüllt. Zur Zeit der tiefsten Fascikulation hat der Spermienkopf bereits eine völlig glatte Oberfläche. Gewöhnlich ist der stabförmige vorn zugespitzte Kopf etwas gewellt. Das hintere Bläschen und die knopfförmige Verdickung sind nicht mehr sichtbar. Der Schwanzfaden ist ebenfalls vollkommen ausgebildet. An dem homogenen Kopf ist von einer spiraligen Drehung der Chromatinmasse meist nichts mehr zu bemerken. Nur in einigen mit Carnoy'scher Flüssigkeit fixierten Präparaten zeigten die Spermien eine vielleicht durch Quellung verursachte Streifung und deuteten so auf die spiralige Struktur hin (Fig. 227). Diese komplizierte Entwicklung der Chromatinmenge ist für die Funktion des Spermiums äusserst wichtig und zweckmässig, da die drehende Bewegung, die neben der stabförmigen zugespitzten Gestalt das Eindringen in das Ei erleichtert, nur durch den spiraligen Aufbau des Kopfes ermöglicht wird. Am hinteren Ende des fertigen Spermiums ist meist der lange Schwanzfaden mit seiner etwas kräftigeren Geisselwurzel sichtbar.

Die Umwandlungen des Zellkörpers entsprechen denen des Kernes; er passt sich der jeweiligen Form des Kernes an. Je länger dieser wird, je mehr streckt sich auch das Cytoplasma. Der fertige Samenfaden wird so von einem Plasmaleib umgeben, der, wie der Kopf, vorn zugespitzt und hinten breiter ist. Das Zellplasma umhüllt den Samenfaden, bis dieser das Epithel verlässt. Vielfach wird aber der Zellkörper schon früher teilweise

aufgelöst. Am längsten bleibt das hintere Ende vom Plasma umschlossen, das dann wie eine Kappe darüber sitzt. Beim Loslösen vom Epithel wird der Zellkörper vollends abgestreift und nur an der Geisselwurzel sind noch Plasmareste zu beobachten. Das Idiozom liegt während dieser ganzen Zeit an irgend einer Stelle des Plasmas neben dem Kern in seiner charakteristischen bläschenartigen Form. Ein Einfluss auf die Längsstreckung des Kernes oder eine konstante Lage des Idiozoms konnte nicht festgestellt werden. Wenn die reifen Spermien das Samenepithel verlassen haben, bilden sie mit dem Cytoplasma Restkörper, die jedoch bereits im 1. Stadium spurlos verschwunden sind. Jedenfalls sind sie in die abführenden Kanäle getrieben oder vom Epithel resorbiert worden. Safranophile Restkörperchen, wie sie bei der Ratte vorkommen, fehlen bei den Enten.

Atypische Spermien (Fig. 229—238).

Auf jedem Schnitte durch einen Brunsthoden finden sich neben normal gestalteten Spermien solche, die sich durch eine ungewöhnliche Form auszeichnen. Vereinzelt treten atypische Spermien in den meisten Tubuli auf. In einigen Röhrchen finden sie sich jedoch auch in grösserer Anzahl vor. Ein beobachtetes Kanälchen enthielt sogar nur anormale Spermien. Ein derartig zahlreiches Vorkommen ist in einem Brunsthoden als pathologisch anzusehen. Neben den Degenerationserscheinungen an normal grossen Samenfäden, wie sie in der Vorsamenbildung als Regel auftreten und daher dort näher beschrieben werden sollen, finden sich noch mehrköpfige Spermien und Riesenformen. Die mehrköpfigen Samenfäden besitzen keinen stabförmigen Charakter, sondern sind vielmehr kugelig geblieben und liegen in einem gemeinsamen länglichen oder mehr abgerundeten dunklen Zellkörper. In ihnen sind auch meist mehrere Geisselwurzeln zu beobachten. Unter den Riesenspermien lassen sich zwei Typen unterscheiden. Die einen besitzen einen völlig normal gebauten Kopf, so dass sie sich nur durch ihre oft ungeheuerere Grösse von den übrigen unterscheiden. Eine regelrechte Dimorphie der Spermien, wie sie Guyer bei der Taube beobachtet hat, je nachdem vier oder fünf Chromosomen in die Spermiden eingewandert sind, konnte nicht festgestellt werden. Die Riesenspermien treten vielmehr nur vereinzelt auf. Die andere Art von übergrossen Samen-

fäden besitzt einen anormal gestalteten Kopf. Gewöhnlich ist das Mittelstück kugelig verdickt oder der ganze Kopf ungewöhnlich breit. Die Riesenspermien entstehen aus jenen Riesenspermiden, die, wie auch Broman annimmt, jedenfalls aus mehrpoligen Spindeln hervorgehen. Unwahrscheinlich ist die Annahme von Smith, dass sie sich aus Zellen entwickeln, die die zweite Reifeteilung nicht durchgemacht haben, also direkt aus Präspermiden. Eine Verschmelzung mehrerer Spermiden konnte nicht beobachtet werden. Die mehrköpfigen Spermien entstehen aus mehrkernigen Spermiden, die offenbar aus Mitosen mit ungleichmässig vertheiltem Chromatin und ohne nachherige Zellteilung hervorgegangen sind, ebenso wie sich die degenerierten Spermien vielleicht in ähnlicher Weise erklären lassen.

Anormale Idiozome (Fig. 239—250).

Erwähnt sei noch das Vorkommen eines ungewöhnlich grossen Idiozoms in dem Samenepithel eines Testikels von Lampronessa. In den Spermiogonien tritt es als grosse stark färbbare Kugel an irgendeiner Stelle des Cytoplasmas auf. Ist der Kern eingebuchtet, so liegt es zuweilen in dem Einschnitt dicht an der Kernmembran. Nicht selten erscheint das Plasma in seiner Umgebung etwas heller. Während der Spermiogonienmitosen löst es sich augenscheinlich auf und vertheilt sich in die beiden Tochterzellen. Besondere Eigentümlichkeiten zeigt das Idiozom während der Spermiocytenlaufbahn. Der Rand ist stark dunkel gefärbt, während die Mitte heller ist. Zur Zeit der Synapsis liegt es in der Regel auf derselben Seite wie die zusammengeballte Chromatinmasse. Im Innern des Idiozoms sind während dieses Stadiums häufig dunklere Linien sichtbar. Nicht selten erscheint das sonst kugelige Idiozom in die Länge gestreckt und durch dünne Fäden mit der Kernmembran verbunden. In seiner Umgebung kann man zuweilen mehrere kleine Körnchen beobachten, die offenbar die aus dem Idiozom gewanderten Centrosomen darstellen. In manchen Zellen treten auch im Cytoplasma mehrere stärker färbbare Substanzen ein. Die Spermiocyten, deren Kerne ein lockeres Chromatinknäuel besitzen, lassen ebenfalls ein längliches Idiozom erkennen. Während der zweiten Reifeteilung erscheint das Idiozom als homogener ovaler Körper. Es liegt gewöhnlich ausserhalb der Spindel, entweder in derselben Höhe wie die

Äquatorialplatte oder in einer Zellhälfte in der Nähe eines Poles. In der Regel ist von einer Teilung des Idiozoms nichts zu bemerken. Nur selten zeigt es eine Einschnürung, als ob es sich teilen wollte. Von den Chromosomen lässt es sich auch hier leicht unterscheiden, wenn man die Färbung mit Hämalaun-Safranin anwendet. Es färbt sich dann mit Hämalaun blass-violett und nicht mit Safranin rot wie die chromatische Substanz. In den Präspemiden und Spemiden zeigt es keine Besonderheiten. Die Mitte des bläschenförmigen Idiozoms erscheint meist heller als der Rand. In der Nähe des Kerns gelegen, lässt es bisweilen eine Verbindung mit diesem erkennen. Um das Idiozom erscheint in der Regel wieder eine hellere Plasmazone. Enthält die Zelle einen Doppelkern, so liegt es gewöhnlich in gleichem Abstand von beiden Kernen. Zur Zeit der histologischen Umwandlung der Spemiden und Spemien ist seine bläschenförmige Gestalt an beliebiger Stelle im Cytoplasma sichtbar. Selbst bei fertig ausgebildeten Samenfäden lässt es sich noch in dem langgestreckten Zellkörper beobachten, um erst nach dem Verlassen des Spemiums mit dem Plasma als Restkörper zurückgelassen zu werden.

Da sich ein derartig grosses Idiozom nur in dem einen untersuchten Hoden vorfand und die Tubuli verhältnismässig viel degenerierte Samenfäden enthielten, ist die ganze Erscheinung dieses ungewöhnlich grossen Idiozoms als anormal anzusehen.

Über die Veränderung des Hodens bei der Vorsamenbildung und der Mauser.

Da der Bau des Winterhodens reinartiger Enten in Polls fünfter Mischlingsstudie beschrieben worden ist, so war es von Interesse, auch die Erscheinungen, die sich während der Übergangsperiode von der Winterruhe bis zur vollkommenen Samenbildung abspielen, näher zu untersuchen. Um den Kreis des Entwicklungsganges zu schliessen, war es von gleicher Bedeutung, die Veränderung im Hodengewebe nach der Brunstzeit während der Mauser festzustellen.

Als Material für die Vorsamenbildung dienten die Testikel frisch getöteter Stockerpel. Die Hoden wurden in gleicher Weise wie bei der normalen Samenbildung fixiert und weiterbehandelt. Zur Untersuchung des Mauserhodens gelangten Testikelstückchen, die Herr Prof. Poll bereits eingebettet hatte und mir in liebens-

würdigster Weise zur Verfügung stellte. Da die Samenbildung der verschiedenen Enten nahezu in derselben Art verläuft, so war es nicht nötig, ein und dieselbe Form zu untersuchen, sondern es wurden verschiedene Formen herangezogen. Die einzelnen Objekte sollen nicht nach dem Zeitpunkt ihrer Fixierung betrachtet werden, sondern nach der Entwicklungsstufe ihres Samenepithels.

Materialübersicht.

Vorsamenbildung.

1. 695	Anas boschas	fixiert am	6. 2. 1912	C. Fl. T. Z.
2. 696	" "	" "	9. 2. 1912	C. Fl. T. Z.
3. 698	" "	" "	20. 2. 1912	C. Fl. T. Z.
4. 699	" "	" "	20. 2. 1912	C. Fl. T. Z.
5. 700	" "	" "	1. 3. 1912	C. Fl. T. Z.
6. 701	" "	" "	5. 3. 1912	C. Fl. T. Z.
7. 703	" "	" "	13. 3. 1912	C. Fl. T. Z.

Mauser.

1. 345	Anas boschas	fixiert am	7. 6. 1909	Fl. Z.
2. 346	" "	" "	23. 6. 1909	Fl.
3. 347	" "	" "	25. 6. 1909	Fl.
4. 348	Mareca penelope	" "	29. 6. 1909	Fl.

Vorsamenbildung.

Ungefähr in der Mitte des Februars beginnt in den männlichen Keimdrüsen plötzlich eine lebhaftere Tätigkeit einzusetzen. Die Zellelemente des Samenepithels vermehren sich stark und bedingen ein Ausdehnen der Tubuli und somit ein Anwachsen des ganzen Hodenvolumens. Dieser Beginn der Vorbereitungen für die eigentliche Samenbildung ist jedoch nicht genau festzulegen, da das Alter des Tieres, besonders aber der Einfluss des Wetters, eine nicht unwesentliche Verschiebung herbeiführen kann. Nicht selten erfolgen in schon weiter fortgeschrittenen Keimdrüsen Stillstände oder sogar Rückschläge infolge ungünstiger Witterung oder Lebenslage.

Stadium 1 (Erpel 695, Fig. 251).

Der Hoden eines am 6. Februar getöteten Erpels bietet im Querschnitt seiner Tubuli noch im wesentlichen den Anblick, den Poll für den normalen Winterhoden beschrieben hat. Die kleinen,

wenig gewundenen Röhrchen enthalten nur eine geringe Anzahl von Zellelementen. Wandständig liegen die länglichen Archispermiocyten (Poll), deren Längsachse in der Regel senkrecht zur Tunica propria steht. Zwischen ihnen liegen vereinzelt die Präspirmiogonien, deren Kerne sich durch ihre helle kugelige Gestalt und ihre Grösse leicht von den Archispermiocyten unterscheiden lassen. Die Chromatinmasse der Präspirmiogonien ist nur gering; sie besteht aus einigen gröberen Brocken und zahlreichen staubförmigen Körnchen. Während sich die Zellkörper der Archispermiocyten schwer voneinander abtrennen lassen, kann man den Plasmabezirk, der den Präspirmiogonien zugehört, deutlich erkennen. Im Cytoplasma ist zuweilen deutlich ein dunkles sphärisches Körperchen mit einem helleren Plasmahof zu beobachten. Nach dem Lumen zu liegen nur spärlich die Präspirmiocyten in ihren beiden Modifikationen. Ihre Kerne zeigen entweder ein lockeres Chromatinknäuel oder eine einseitig zusammengeballte Chromatinmasse wie in der Synapsis der Samenbildung. In der Nähe des scharf abgesetzten Lumens oder in der Lichtung selbst liegen häufig degenerierende Zellen. Während Loisel beim Sperling nur direkte Kernteilung beobachtet hat, treten bei den Enten neben den amitotischen Einschnürungen der Präspirmiogonien vereinzelt Mitosen auf, wie sie auch Poll bereits im Winterhoden gefunden hat. Ihre Lage im Epithel ist sehr verschieden. Da die Wand gewöhnlich vollständig von den Archispermiocyten eingenommen wird, liegen sie meist mehr nach dem Lumen. In ihrer Form ähneln sie denen der Spermiogonien; wie bei diesen zeichnen sie sich durch Chromatinreichtum, ihre Breite und geringen Centrosomenabstand aus. Zuweilen degenerieren die Zellen gerade im Teilungsstadium. Telophasen sind nur selten zu beobachten. Die einzelnen Samenröhrchen sind noch durch faseriges Bindegewebe mit zahlreichen verschieden gestalteten Kernen voneinander getrennt.

Stadium 2 (Erpel 696, Fig. 252).

Der Testikel eines Erpels, der einige Tage später, am 9. Februar getötet wurde, zeigt bereits ein etwas fortgeschrittenes Stadium. Die Tubuli sind zwar noch wenig gewunden, so dass man viele quergetroffene Röhrchen antrifft, aber sie haben schon an Volumen zugenommen. Besonders auffällig im Hodengewebe

ist das Verschwinden des interstitiellen Bindegewebes, das nahezu vollständig von den sich ausdehnenden Kanälchen verdrängt ist. In der Regel stossen diese direkt aneinander und nur in den Zwischenräumen, die von drei Tubuli eingeschlossen werden, sind noch zahlreichere Kerne angehäuft. Das Samenepithel hingegen zeigt noch keine wesentliche Weiterentwicklung. Die Arten der Zellelemente haben sich nicht vermehrt. Im allgemeinen haben die grösseren Präspermiogonien an Zahl zugenommen auf Kosten der kleinen Archispermiocten, die sich verringert haben. Sonst aber zeigen die Präspermiogonien noch dasselbe Aussehen, nur ist ihr Volumen oft vergrössert. Nicht selten sieht man amitotische Kerneinschnürungen und vielleicht infolge davon Doppelkerne im Zellkörper der Präspermiogonien. Etwas häufiger sind auch ihre Mitosen geworden, die nicht selten zu mehreren in Gruppen zusammenliegen. Bisweilen lassen sich auch Telophasen beobachten, die ebenfalls an die der typischen Spermiocten erinnern. Da noch genug Platz vorhanden ist, können die Teilungen sowohl an der Wand als auch am Lumen liegen. In den oberen Schichten sind die zwar noch vereinzelt, aber schon in grösserer Anzahl vorhandenen Präspermiocten verstreut. Zu Mitosen der Präspermiocten kommt es noch nicht, da ihre Kerne über das Stadium des lockeren Knäuels nicht hinausgehen. An der Wand trifft man vereinzelt Kerne, die sich durch die fibrilläre Struktur des umgebenden Plasmas als den Sertolikernen entsprechende Elemente kennzeichnen.

In dem scharf abgesetzten Lumen finden sich häufig losgelöste degenerierte Zellen, meist Präspermiocten, deren kugeliges Plasma dicht ist und dunkel gefärbt. Degenerationsprodukte lassen sich auch im Samenepithel selbst beobachten. Besonders interessante Bilder bieten die während der Mitose zugrunde gehenden Zellen. Die Chromosomen verklumpen stark und nehmen zuweilen eine kugelige Gestalt an. Degenerierende Prophasen zeigen ebenfalls eine starke Verklumpung des Chromatins (Fig. 260—264).

Stadium 3 (Erpel 698, Fig. 265).

Eine weit lebhaftere Tätigkeit beginnt das Samenepithel Ende Februar zu entwickeln. Die Tubuli eines am 20. Februar fixierten Hodens, der eine Länge von 14 mm hatte, enthielten zum Teil eine bedeutend grössere Anzahl von Samenbildungszellen.

Einige Samenröhrchen stehen zwar noch auf dem vorigen Stadium, die meisten aber zeigen doch einen Fortschritt. Die Archispermiocyten haben sich wesentlich verringert und sind nur noch vereinzelt sichtbar. An ihre Stelle sind mehr und mehr die Präspermiogonien getreten, die jetzt nahezu das ganze wandständige Lager einnehmen. Nur noch vereinzelte Sertolielemente liegen ausser den wenigen Archispermiocyten zwischen ihnen. Da die Entwicklung in äusserst seltenen Fällen schon bis zu den Prospermien geht, kann man die Präspermiogonien teilweise bereits als Spermio gonien, die Präspermiocyten als Spermio cyten bezeichnen. Die amitotischen Einschnürungen sind seltener geworden, indes sich die Mitosen der Spermio gonien vermehrt haben. Diese sind gewöhnlich von den übrigen Zellen an die Wand gedrängt. Durch das häufigere Auftreten von Teilungen haben die Spermio gonien nicht mehr die Zeit, so abnorm grosse Dimensionen, wie sie im vorigen Stadium zuweilen vorkamen, anzunehmen.

Neben diesen Spermio gonienmitosen treten nunmehr auch die mitotischen Teilungen der Spermio cyten und der Präspermiden hinzu. Häufiger bemerkt man jetzt Spermio cyten, die sich weiter als vorher entwickeln. Einzelne schreiten sogar zur Teilung, wenn auch die grössere Hälfte schon vorher degeneriert. Noch seltener lassen sich Präspermiden oder sogar deren Mitosen beobachten. Die Teilungsfiguren der Spermio cyten und Präspermiden gleichen vollkommen den entsprechenden Mitosen der fertigen Samenbildung. Ganz wenige Zellen erreichen das Stadium der Spermiden. In ganz seltenen Fällen vermögen diese sich in Prospermien umzuwandeln, die dann durchweg Degenerationserscheinungen zeigen. Zu fertig ausgebildeten Spermien kommt es überhaupt nicht.

Das zuweilen noch scharf abgesetzte Lumen ist oft von zahlreichen losgelösten Zellelementen in den verschiedensten Stadien erfüllt. Trotzdem noch keine Samenfäden vorhanden sind, kann man doch schon in der Umgebung der Sertolielemente an einigen Stellen bereits die charakteristischen Sekretkügelchen im Plasmasyncytium beobachten, wie sie während der normalen Samenbildung in den Fascikulationsstadien auftreten. Da sie keine Samenfäden zu ernähren hat, kommt dieser Sekretion vielleicht hier eine andere unbekannte Bedeutung als dort zu.

So nähert sich im grossen und ganzen der Anblick schon dem der eigentlichen Spermiogenese, besonders durch die starke Vermehrung der Synapsisstadien. Alle Zellgenerationen der Brunstperiode sind bereits im Samenepithel, wenn auch zum Teil nur spärlich, vertreten.

Stadium 4 (Erpel 701, Fig. 266).

Ein unmittelbar darauffolgendes Stadium zeigt uns das Keim-epithel eines am 5. März getöteten Erpels. Die Hodenlänge betrug 23 mm. Die Mehrzahl der Tubuli stehen auf derselben Entwicklungsstufe wie die des vorigen Testikels. Sie sind noch völlig frei von ausgebildeten Spermien. Während sich aber dort nur ganz spärliche Prospermien vorfinden, treten hier in einigen Röhrchen bereits mehrere fertige Samenfäden auf. Zu Fascikeln vereinigen sie sich noch nicht, sondern sie liegen nur vereinzelt im Samenepithel verstreut. Ihr Kopf zeigt auch keine normale Gestalt, sondern weist immer Degenerationserscheinungen auf. In der Regel ist der hintere Teil des Kopfes kugelig aufgetrieben und das vordere Ende anormal dünn. Zuweilen ist der Kopf umgebogen oder sogar spiralförmig zusammengerollt. Nicht selten ist er auch in seiner ganzen Ausdehnung ungewöhnlich breit. In der Regel kommt es hingegen noch gar nicht zur Ausbildung von Spermien, sondern die Bildungszellen gehen meist auf früheren Stadien zugrunde. Häufig sieht man daher ihre Degenerationsprodukte im Epithel oder im Lumen liegen. Das Keimepithel ist nicht mehr so scharf gegen das Lumen abgegrenzt. Die Zeilelemente sind dieselben wie bei der normalen Kernbildung. Nur durch die geringe Höhe, die durch die kleinere Anzahl der Zellen bedingt ist, und das Fehlen der Spermien unterscheidet sich dieses Samenepithel von dem der Brunstzeit. Die Archispermio-cyten sind gänzlich verschwunden und haben den Spermiogonien Platz gemacht, die nunmehr die ganze unterste Schicht einnehmen. Auch die Sertolikerne sind von ihnen ins Innere gedrängt worden. Der obere Teil des Bildungsgewebes wird ausschliesslich von den übrigen Zellgenerationen, den Spermiocyten, den Präspemiden und den Spemiden eingenommen. Die Spermiocyten bilden jedoch nur eins bis zwei Reihen, die Spemiden gewöhnlich nur eine Lage.

Stadium 5 (Erpel 699, Fig. 267).

Das nächste Stadium findet sich in einem Hoden, der schon am 20. Februar fixiert wurde, also bedeutend früher als der vorher betrachtete und am selben Tage wie der das dritte Stadium zeigende. Dieser Befund beweist mithin ganz deutlich, dass das Fortschreiten der Samenbildung nicht allein von der Zeit abhängig ist, sondern auch von anderen individuellen und äusseren Umständen. Trotzdem die Entwicklung weitergegangen ist, hat sich die Länge des Testikels nicht vergrössert, sogar noch eine Kleinigkeit gegen das vorige Stadium verringert; sie betrug 22 mm; im vorigen dagegen 23 mm. Man darf also von der Länge des Hodens nicht ohne weiteres auf das Stadium schliessen, da auch das Volumen des Testikels individuell verschieden ist, hauptsächlich jedenfalls vom Alter abhängig ist.

Die grössere Hälfte der Tubuli ist noch frei von Spermien, zeigt also noch keine Weiterbildung. Der Samenbildungsprozess hält in der Regel bei den Spermioeyten an, in manchen Fällen geht er bis zu den Präpermiden und Spermiden. Einige Samenkanälchen zeigen hingegen schon wesentliche Fortschritte; sie weisen mitunter zahlreiche fertig ausgebildete Spermien auf. Viele zeigen zwar noch Degenerationerscheinungen, aber es treten doch auch völlig normal gestaltete auf. Meist sind sie nur vereinzelt vorhanden. Dort, wo mehrere zusammenliegen, zeigen sie bereits die Tendenz, sich zu Büscheln anzuordnen.

Die Zahl der übrigen Zellen hat sich erheblich vermehrt und das Epithel ist dadurch etwas höher geworden. Mitosen der verschiedenen Elemente treten jetzt häufiger auf. Die Spermio-
gonienteilungen liegen nur noch an der Wand des Tubulus. Die Sertolikerne sind durch die starke Vermehrung der Spermio-
gonien gänzlich von der Membran verdrängt.

Stadium 6 (Erpel 700 und 703, Fig. 268).

Den letzten Schritt zur fertigen Samenbildung zeigen die Hoden eines am 1. und eines am 13. März getöteten Erpels. Der am 1. fixierte Testikel hatte eine Länge von 34 mm, war also weit grösser als der vorhin betrachtete vom 5. März. Der am 13. März eingelegte Hoden hatte hingegen nur eine Länge von 25 mm, war mithin nur wenig grösser als der vom 5. März. Trotzdem ist sein Samenepithel erheblich weiter entwickelt. Fast

alle Tubuli enthalten nunmehr vollkommen reife Samenfäden. Sehr wenige enthalten überhaupt keine, einige nur vereinzelte. In den Röhrchen des am 13. März fixierten Hodens zeigen noch viele Spermien Degenerationerscheinungen, während diese in dem vom 1. März wesentlich geringer sind. Manche Tubuli enthalten schon so zahlreiche Spermien wie zur Brunstzeit. Fascikel sind dann überall deutlich ausgeprägt. In dem Lumen, das nicht mehr scharf umgrenzt ist, sieht man zuweilen Gruppen fertiger Spermien schwimmen, die sicher schon befruchtungsfähig sind.

Mit den Spermien haben sich auch die Zellelemente der anderen Generationen vermehrt. Überhaupt bietet das Samenepithel an einigen Stellen denselben Anblick wie zur Zeit der höchsten Brunst. Die Kanälchen sind durch die Vermehrung der Zellen mächtig ausgedehnt worden und aus diesem Grunde stark gewunden, weshalb nur noch selten quergeschnittene Röhrchen angetroffen werden. Das interstitielle Bindegewebe ist vollständig verschwunden.

In der zweiten Hälfte des März ist dann bereits die Brunstperiode des Wilderpels eingetreten. Der Hoden eines am 25. März getöteten Erpels hatte eine Länge von 43 mm; der Prozess hatte jetzt den Höhepunkt seiner Entwicklung erreicht.

Mauserhoden.

Mit dem Ablauf der Brunsterscheinungen beginnt auch die Tätigkeit des Samenepithels nachzulassen. Der Eintritt der Mauserperiode ist je nach der Art und der individuellen Veranlagung verschieden. Während z. B. der Stockerpel bereits Anfang Juni sein Schmuckkleid abwirft, beginnt der Türkenerpel erst Ende Juli zu mausern. Ein am 27. Juli getöteter Cairina-Erpel, der anfangs sein Prachtkleid abzulegen, zeigte in seinem Hodengewebe noch keinerlei sichtbare Veränderungen. Das Samenepithel erscheint noch in voller Tätigkeit. Zahlreiche Spermien werden gebildet und Degenerationerscheinungen kommen nicht in ungewöhnlicher Anzahl vor. Weit stärker noch wird die Brunstperiode beim Hauserpel verlängert. Infolge der günstigen Lebensbedingungen tritt hier die Mauser erst im Herbst ein. Die ersten Anzeichen des Nachlassens der Tätigkeit machen sich im Keimepithel durch das Auftreten zahlreicher anormal gestalteter Spermien bemerkbar.

Stadium 1 (Erpel 345, Fig. 278).

In dem Samenbildungsgewebe eines am 7. Juni fixierten Testikels treten bereits viele degenerierte Samenfäden auf. Oft sieht man mehrere nebeneinander liegende gut ausgebildete Fascikel, die nur normal gebaute Spermien enthalten. Dann wieder bemerkt man solche, die sich teilweise oder gänzlich aus degenerierten Samenfäden zusammensetzen. In vielen Tubuli herrscht so noch volle Samenbildung, während in anderen funktionsfähige Spermien kaum mehr vorhanden sind. Die Degenerationszeichen machen sich auch hier durch eine anormale Form der Spermienköpfe bemerkbar. Diese erscheinen ungewöhnlich breit oder hinten kugelig aufgetrieben. Nicht selten sind sie zusammengerollt oder gekrümmt. Bisweilen findet man derartig degenerierte Samenfäden tief ins Epithel hineingezogen, um dort offenbar resorbiert zu werden.

In den Zellelementen selber lassen sich noch keine wesentlichen Veränderungen nachweisen. Meist ist die Anzahl der Zellen und ihrer Teilungen fast ebenso zahlreich wie zur Brunstzeit. An der Wand liegen noch dichtgedrängt die Spermio gonien.

Stadium 2 (Erpel 348, Fig. 279).

Ein anderes Bild zeigt sich bereits 3 Wochen später in den Samenröhrchen eines am 29. Juni getöteten Pfeiferpels. Die reifen Spermien sind nahezu vollständig verschwunden. Nur spärliche Reste sind noch vorhanden, besonders in den ableitenden Wegen des Nebenhodens. Neue Samenfäden werden jetzt nicht mehr gebildet. Höchstens findet man hier und da anormal gestaltete Prospermien in einigen Kanälchen. Meist degenerieren die Zellen indes bereits als Spermiden oder in einem noch früheren Stadium. Die Zahl der Zellen hat bedeutend abgenommen und das Samenepithel ist daher niedriger geworden. Trotzdem sind aber noch alle Zellgenerationen der Samenbildung vertreten. Die Spermio gonien liegen nicht mehr so gedrängt in den untersten Schichten des Keimlagers. Zwischen ihnen sind schon vereinzelt die kleinen länglichen Kerne der Archispermio cyten sichtbar. Die Sertolielelemente rücken allmählich ebenfalls wieder an die Wand, wo jetzt Platz genug für sie vorhanden ist. Die Mitosen sämtlicher Zellformen sind zwar noch zu beobachten, sind aber bedeutend seltener geworden. Mit der Anzahl der Zellen hat sich auch

der Durchmesser der Tubuli verkleinert. Da die Kanälchen nicht mehr so stark gewunden sind, begegnet man jetzt wieder häufiger Querschnitten. Die einzelnen Röhrchen stossen zwar noch unmittelbar aneinander, doch sieht man bereits in den Zwischenräumen dreier zusammenstossender Kanälchen Kerne des interstitiellen Bindegewebes angesammelt.

Stadium 3 (Erpel 347, Fig. 280).

In dem Testikel eines am 25. Juni getöteten Stockerpels sind die Querschnitte der Samenschläuche wesentlich kleiner. Das interstitielle Bindegewebe ist stark vermehrt und beginnt bereits sich zwischen die einzelnen Tubuli einzuschieben. Besonders an der Tunica albuginea trennt es schon fast alle Röhrchen voneinander, während es in der Mitte des Hodenquerschnittes weniger ausgedehnt ist und zum Teil noch gänzlich fehlt.

Die Anzahl der Zellelemente ist stark reduziert. In der Nähe des Lumens, das jetzt scharf gegen das Samenepithel abgegrenzt ist, liegen nur sehr wenige Zellen. An der Wand befinden sich zahlreiche Spermiogonien und zwischen ihnen in geringer Anzahl die Archispermiocyten und Sertolielemente. Die Entwicklung geht bis zu den Spermiden, doch sind diese bereits ausserordentlich selten und zeigen gewöhnlich Degenerationserscheinungen, die sich durch starke Verklumpung der Chromatinmasse und Verdichtung des Zellplasmas kenntlich macht. Häufig liegen derartige Degenerationsprodukte losgelöst im Lumen. In der Regel aber gehen die Zellen bereits als Spermiocyten zugrunde. Diese liegen gleichfalls nur vereinzelt im Epithel verstreut. Meist sieht man sie im Stadium der Synapsis oder des lockeren Knäuels. Teilungsfiguren sind zwar noch vorhanden, sind jedoch sehr selten geworden. Zuweilen findet man wie bei der Vorsamenbildung degenerierende Mitosen. Zur Ausbildung fertiger Spermien kommt es nicht mehr. Alle Tubuli sind frei von Samenfäden und Prospermien. Nur in den Kanälen des Nebenhodens sind noch manchmal die letzten Reste der Spermien-generation sichtbar.

Stadium 4 (Erpel 346, Fig. 281).

Der Hoden eines am 23. Juni getöteten Erpels hat fast das Stadium der Winterruhe erreicht. Starkes interstitielles Binde-

gewebe mit zahlreichen verschieden geformten Kernen trennt die einzelnen Tubuli voneinander. Der Durchmesser der Röhrchen, die besonders in der Mitte des Querschnittes nur wenig gewunden sind, hat sein Minimum nahezu erreicht. Das ganze Bild des Samenepithels erinnert an die ersten Stadien der Vorsamenbildung. Das die Innenwand des Kanälchens auskleidende Keim-epithel ist ausserordentlich niedrig. Es enthält fast nur die wandständigen Spermiogonien und die zahlreicher gewordenen Archispermiocyten. Die kleinen Zellelemente wiegen jetzt vor. Da Platz vorhanden ist, sind die Spermiogonien, die man jetzt wieder als Prä spermiogonien bezeichnen muss, zum Teil nach dem Lumen hingerückt. Lumenwärts liegen auch die Spermiocyten oder vielmehr Prä spermiocyten, die jedoch nur spärlich in der Synapsisform oder als lockeres Knäuel vorhanden sind. Alle übrigen Zellen fehlen völlig. Abgelöste, zugrunde gegangene Zellprodukte sind häufig in dem Lumen zu beobachten.

Diese histologischen Befunde über den Bau des Mauserhodens stehen im Widerspruch mit den Beobachtungen Chappeliers über Paarungen der Enten ausserhalb der Brunstperiode. Da keine reifen Samenfäden gebildet werden, lässt sich diese eigenartige Erscheinung, die doch völlig zwecklos ist, mit den histologischen Ergebnissen nicht in Einklang bringen und erklären.

Schluss.

Während eines Jahres nimmt die Tätigkeit des Entenhodens einen wellenförmigen Verlauf. Den Höhepunkt seiner Funktion erreicht der Testikel zur Brunstzeit, während er im Winter dagegen kaum eine merkliche Tätigkeit entfaltet. Die starke Volumenvergrösserung, die im Frühjahr oft recht plötzlich einsetzt, wird durch die Vermehrung der samenbildenden Elemente bedingt. Neben dem Anschwellen der Hodengrösse geht eine fortschreitende Entwicklung in den Generationen der Samenbildungszellen einher, oft von ungünstigen Lebensbedingungen aufgehalten. Im März und Mai hat dann der Hoden das Maximum seines Volumens und seiner inneren Tätigkeit erreicht. Die für den Winterhoden charakteristischen Archispermiocyten verschwinden während der Vorsamenbildung und wandeln sich offenbar einesteils in Spermiogonien, anderenteils in Sertolielelemente um. Bemerkenswert ist auch das Verschwinden des

interstitiellen Bindegewebes, das nach und nach vollständig von den sich ausdehnenden Samenröhrchen verdrängt wird. Bei Beginn der Mauser verringert sich das Volumen des Hodens wieder. Die Archispermiocyten und das interstitielle Bindegewebe erscheinen von neuem, während die samenbereitenden Zellen mehr und mehr reduziert werden. Die Tubuli, deren Querschnitte kleiner geworden sind, strecken sich wieder. Dieselbe Erscheinung, wie sie Tandler und Gross beim Maulwurfshoden beobachtet haben, zeigt sich also auch hier bei den Enten. Ein Maximum des Hodenvolumens hat ein Minimum des interstitiellen Bindegewebes zur Folge, während umgekehrt im Winter der kleinsten Hodengrösse eine maximale Ausdehnung des Zwischengewebes entspricht.

Die Arbeit wurde vom Winter 1911/12 bis Sommer 1913 im Anatomisch-biologischen Institut zu Berlin angefertigt. Herrn Geheimrat Prof. Dr. Hertwig spreche ich für das Interesse, das er meiner Arbeit entgegengebracht hat, meinen verbindlichsten Dank aus. Zu besonderem Danke bin ich Herrn Prof. Dr. Poll verpflichtet; sowohl für die liebenswürdige Überlassung seines Materials als auch für die vielen Ratschläge möchte ich ihm meinen besten Dank aussprechen.

Literaturverzeichnis.

- Ballowitz: Untersuchungen über die Struktur der Spermatozoen, zugleich ein Beitrag zur Lehre vom feineren Bau der kontraktilen Elemente. I. Vogelspermien. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 32, S. 401—473, 1888.
- Bateson, W.: Materials for the Study of Variation. London 1894.
- Derselbe: Mendels Principles of Heredity. Cambridge University Press, 1909.
- Broman, J.: Über Bau und Entwicklung von physiologisch vorkommenden atypischen Spermien. Anat. Hefte, Bd. XVIII, S. 509—547, 1902.
- Buresch, J.: Untersuchung über die Zwitterdrüse der Pulmonaten. I. Die Differenzierung der Keimzellen bei *Helix arbustorum*. Arch. f. Zellforschung, Bd. VII, S. 314—343.
- Chappelier, A.: L'Activité génitale chez les oiseaux en dehors de la période de reproduction. Comptes rendus des sciences de la Société de Biologie. T. LXXIII, S. 28.
- Davenport, C. B.: Inheritance in Poultry. Publ. Carnegie Inst., 1907.
- Derselbe: Inheritance in Canaries. Carnegie Inst. Publ. Washington 1908.

- Demoll: Die Spermatogenese von *Helix pomatia*. Ein Beitrag zur Kenntnis der Heterochromosomen. Zool. Jahrb., Suppl. XV, Bd. 2, S. 107—140.
- Disselhorst, R.: Über Asymmetrien und Gewichtsunterschiede der Geschlechtsorgane. Phys. Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk., 24, S. 417 bis 451, 1898.
- Derselbe: Gewichts- und Volumszunahme der männlichen Keimdrüse bei Vögeln und Säugern in der Paarungszeit; Unabhängigkeit des Wachstums. Anat. Anz., 32, S. 113—117, 1908.
- Goldschmidt, R.: Einführung in die Vererbungswissenschaft. Leipzig 1911.
- Guyer, M. F.: Spermatogenesis of Normal and Hybrid Pigeons. Dissertation at the University of Chicago 1900.
- Derselbe: The Spermatogenesis of the Domestic Guinea (*Numida meleagris* dom.). Anat. Anz., XXXIV, S. 502—513, 1909.
- Derselbe: The Spermatogenesis of the Domestic Chicken (*Gallus gallus* dom.). Anat. Anz., XXXIV, S. 573—580, 1909.
- Handbuch der vergleichenden und experimentellen Entwicklungsgeschichte der Wirbeltiere. Herausgeg. v. O. Hertwig. 1. Kapitel. Die Geschlechtszellen v. W. Waldeyer, S. 144.
- Kingsbury, B. F. and Hirsch, Pauline E.: The Degenerations in the Secondary Spermatogonia of *Desmognathus fuscus*. Journal of Morphologie, Vol. 23, S. 231—253.
- Kirillov: Die Spermiogenese beim Pferd. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 79, S. 125—147, 1912.
- Loisel, G.: Etudes sur la spermatogénèse chez le Moineau domestique. Journal de l'Anatomie et la Phys., Jahrg. 36, S. 160—185, 1900; Jahrg. 37, S. 193—216, 1901; Jahrg. 38, S. 112—177, 1902.
- Menci, E.: Über einen Fall von hochgradiger Hyperplasie der Hoden bei einer Ente. Anat. Anz., 31, S. 423—426, 1907.
- Poll, H.: Über Vogelmischlinge. Bericht über den V. Internationalen Ornithologen-Kongress, S. 399—468. Berlin 1910.
- Derselbe: Keimzellbildung bei Mischlingen (Mischlingsstudie IV). Verhandl. d. Anat. Ges. II. Int. Congr. in Brüssel 1910. Ergänzungsheft zum Anat. Anz., Bd. 37, S. 32—57, 1910.
- Derselbe: Mischlingsstudien V. Versamenbildung bei Mischlingen. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 77, S. 210—239, 1911.
- Punnett, R. C.: Mendelismus. Übers. v. W. v. Proskowetz. Brünn 1910.
- Regaud, Cl.: Etudes sur la structure des tubes séminifères et sur la spermatogénèse chez les mammifères. Arch. d'Anatomie microscopique, 1901, S. 101—155, S. 231—380; 1910, S. 291—431.
- Schoenfeld, H.: La spermatogénèse chez le Taureau. Arch. de Biologie, XVIII, 1901.
- Smith, G.: Studies in the Experimental Analysis of Sex. P. 9. On Spermatogenesis and the Formation of Giant Spermatozoa in Hybrid Pigeons. The Quarterly Journal of Microscopical Science, Vol. 58, S. 159—170, 1912.
- Tandler, J. und Gross, S.: Über den Saisondimorphismus des Maulwurfhodens. Arch. f. Entw.-Mech., XXXIII, S. 297—302.

van Hoof, L.: La Spermatogénèse dans les mammifères. La Cellule, T. XXVII, 1912. I. L'évolution de l'élément chromatique dans la spermatogénèse du Rat., S. 291—345. II. Le Synapsis dans les spermatocytes des mammifères, S. 351—371.

Wassermann, F.: Über die Eireifung bei *Zoogonus mirus* Lo. Sitzungsbericht d. Ges. f. Morph. u. Phys. in München.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel XIV—XVII.

Die Figuren von Taf. XIV sind mit 840facher Vergrößerung, von Taf. XV und XVI mit 1280facher (Fig. 25 mit 840facher) Vergrößerung und Taf. XVII mit 540facher (Fig. 273 mit 840facher) Vergrößerung gezeichnet.

Tafel XIV.

Fig. 1—20. Stadien der topographischen Histologie.

Fig. 1—3. Stadium 1, 2 und 2a.

Fig. 4—6. Stadium 3, 3a und 4.

Fig. 7—9. Stadium 5, 6 und 7.

Fig. 10 und 11. Stadium 7a und 8.

Fig. 12 und 13. Stadium 9 und 10.

Fig. 14—16. Stadium 11, 11a und 12.

Fig. 17—20. Fascikulation der übrigen Enten.

Fig. 17. *Cairina*.

Fig. 18 und 19. *Aythya*.

Fig. 20. *Lampronessa*.

Tafel XV.

Sertolikerne.

Fig. 23. Sertolikern von *Lampronessa*.

Fig. 25. Sekretion von Plasmafäden des Sertolisyncytiums.

Fig. 26. Sertolikern von *Cairina*.

Fig. 29. Sertolikern in Berührung mit einem Spermiogonienkern.

Fig. 27. Einschnürung des Sertolikernes.

Spermiogonien.

Fig. 30. Spermiogonien in der Ruhe.

Fig. 31—39. Prophasen.

Fig. 40. Degenerierende Prophase.

Fig. 41. Spermiogonienplatte von der Seite gesehen.

Fig. 42 und 43. Spermiogonienplatten von den Polen betrachtet.

Fig. 44—49. Telophasen.

Fig. 50—52. Junge Spermiogonie.

Fig. 53. Degenerierende junge Spermiogonie.

Fig. 54. Ruhende Spermiogonie vor der zweiten Teilung.

- Fig. 55. Einschnürung der Spermiogonien.
- Fig. 56. Abschnürung.
- Fig. 57—63. Prophasen der zweiten Teilung.
- Fig. 64. Äquatorialplatten der zweiten Teilung von der Seite.
- Fig. 65. Äquatorialplatten der zweiten Teilung von den Polen.
- Fig. 66—69. Platten von den Polen.
- Fig. 70—74. Telophasen der zweiten Teilung.
- Fig. 75—77. Junge Spermiocyten.
- Fig. 78. Spermiogonienähnliche Spermiocyte.
- Fig. 79. Ausbildung der Synapsis.
- Fig. 80—86. Dünnfädige Synapsis.
- Fig. 87, 89 und 90. Bukettstadien.
- Fig. 91 und 92. Aufknäuelung.
- Fig. 93—95. Dickfädige Knäuel.
- Fig. 96 und 97. Dünnfädige Knäuel.
- Fig. 98. Chromatinarne Spermiocyte.
- Fig. 99. Vermehrung der Chromatinsubstanz.
- Fig. 100—102. Spiremstadium.
- Fig. 103—110. Prophasen.
- Fig. 111. Anormale Prophase.
- Fig. 112—117. Spermiocytenplatten von den Polen.
- Fig. 118—121. Spermiocytenplatten von der Seite.
- Fig. 122. Anormal breite Spermiocytenplatte.
- Fig. 123. Anormal breite Spermiocytenplatte.
- Fig. 124. Nebenspindel.
- Fig. 125. Mehrpolige Spindel.
- Fig. 126—134. Telophasen.
- Fig. 135 und 136. Telophasen.
- Fig. 137. Präspermide in Synapsisform.
- Fig. 138 und 139. Verschwinden des Chromatins.
- Fig. 141—144. Prophasen der Präspermiden.
- Fig. 145. Anormale Prophasen der Präspermiden.
- Fig. 146. Präspermidenplatte von den Polen.
- Fig. 147 und 148. Präspermidenplatten von den Polen.

Tafel XVI.

- Fig. 149. Präspermidenplatte von der Seite.
- Fig. 150—158. Telophasen.
- Fig. 159 und 160. Synapsis der Sperrmiden.
- Fig. 161 und 162. Verschwinden des Chromatins.
- Fig. 163—166. Chromatinarne Sperrmiden.
- Fig. 167—169. Kondensierung des Chromatins.
- Fig. 170. Riesenspermide.
- Fig. 171—182. Umbildung der Sperrmiden zu Prospermien.
- Fig. 183—195. Die Längsstreckung der Prospermien.
- Fig. 198—212. Weiterbildung der Prospermien zu homogenen Stäben.

Fig. 213—226. Ausbildung der Prospermien zu fertigen Spermien.

Fig. 227. Reifung der Spermien.

Fig. 228. Fertiges Spermium.

Atypische Spermien.

Fig. 229 und 233. Mehrköpfige Spermien.

Fig. 230. Normales Spermium.

Fig. 232. Degeneriertes Spermium.

Fig. 234—238. Riesenspermium.

Anormales Idiozom.

Fig. 239 und 240. In den Spermiogonien.

Fig. 241. Während der Spermiogonienmitose.

Fig. 242—245. In der Synapsis.

Fig. 246. Im lockeren Knäuel.

Fig. 247 und 248. In den Spermiocytenmitosen.

Fig. 249. In einer doppelkernigen Spermiide.

Fig. 250. In fertigen Spermien.

Vorsamenbildung.

Fig. 253—257. Prophase, Metaphase und Telophase der Präspirmiogonien.

Fig. 258. Einschnürung der Präspirmiogonien.

Fig. 259. Doppelkernige Präspirmiogonie.

Fig. 260. Degenerierende Präspirmiogonienprophase.

Fig. 261. Degenerierende Präspirmiocytensynapsis.

Fig. 262. Degenerierender lockerer Knäuel der Präspirmiocyten.

Fig. 263 und 264. Degenerierende Präspirmiogonienplatte.

Fig. 269—271. Degenerierende Prospermien.

Fig. 273. Sezernierender Sertolikern.

Fig. 272, 274—277. Degenerierende Spermien.

Tafel XVII.

Fig. 251—277. Vorsamenbildung.

Fig. 251. 1. Stadium (Erpel 695).

Fig. 252. 2. Stadium (Erpel 696).

Fig. 265. 3. Stadium (Erpel 698).

Fig. 266. 4. Stadium (Erpel 701).

Fig. 267. 5. Stadium (Erpel 699).

Fig. 268. 6. Stadium (Erpel 700).

Fig. 278—281. Mauser.

Fig. 278. 1. Stadium.

Fig. 279. 2. Stadium.

Fig. 280. 3. Stadium.

Fig. 281. 4. Stadium.

Literarisch-kritische Rundschau.

Mathematics and Mitosis. By Prof. Marcus Hartog. From the Biological Institute of University College, Cork. Mit 7 Textfiguren.

There is nothing more harmful to the progress of science than the parcelling of its area into a series of watertight compartments, each labelled "a distinct science", of which the doors are too often rusted up and immoveable. The reception of my own work on the cell-field has illustrated this evil. The reasoning therein was difficult to the biologist who has forgotten his elementary mathematics and physics: the physicists (to whom the work should appeal on many grounds) have no knowledge of cytology; and, accustomed as they are to arrange for themselves the actual conditions of experiment, can hardly realise in what bonds we biologists labour, who must needs base our conclusions on the logical, quasi-historical synthesis of collections of fixed specimens into an inferred series of changes. On these grounds we most heartily welcome Dr. Geigel's visit to our little domain of cytology¹⁾ and hope that he may continue his interest in our doings.

Yet we cannot accept his reasoning as convincing, because his store of biological facts has been inadequate for his precise calculations. Huxley once said that mathematics is like a mill: the quality of the grist depends largely on that of the corn that is poured into the hopper. But, even before going into the facts, there are some important criticism, of method. Geigel has attempted to obtain the accuracy of an equation. In such complex case equations are quite out of the question: usually all that we can arrive at is the statement that one factor is a "function" of another, "direct" or "inverse", as the case may be. Moreover Geigel's precise equation is arrived at for a field about a single centre whereas the cell-field is essentially dicentric. Thirdly, as I have shown, on the assumption of a centred action, we must assume that the chromosomes are of high "permeability" to the force; and his equations ignore this fact. What would be thought of an equation dealing with gravity in which account was taken

¹⁾ Richard Geigel: Zur Mechanik der Kernteilung und der Befruchtung. Arch. f. mikr. Anat., Bd. LXXX, 1912, II. Abt.

of the mass of the larger body only, in a field of more than one "heavy body"? Or what would be the value of a diagram of the electrostatic field between two charged conductors at opposite ends of a lecture-table covered with apparatus of all kinds, if no account were taken of the presence of these heterogeneous paraphernalia, and of the lecture-table itself.

Finally I may betray a weakness of our kind; and that is a panic fear of mathematic expressions, and in particular of those that contain the symbols " d ", " Δ " & and the long " f ". The school-mathematics that most of us have, alas! forgotten, never reached as far as the infinitesimal calculus. It was only when, with the kind aid of a mathematical friend, I conquered my fears, that I was able to ascertain the meaning of Dr. Geigel's equations and their bearing on the subject; and that after all the " d 's" " Δ 's", & " f 's" did not matter.

I.

We have just noted that the cell-field is dicentric, and that Geigel's equations only deal with a force acting about a single centre. It might be thought by the uninitiated that this would vitiate his equations, and therefore his general conclusion. The equation goes, no doubt; but the general conclusion can be shown to hold also for a two-centred field that the chromosomes should advance, as Geigel supposes, with the axial ones in advance, and the peripheral ones lagging behind. This is susceptible of a very simple geometrical demonstration, for forces acting about centres, and obeying the Newtonian law: i. e. decreasing in intensity as the distance increases. We may suppose the space around either centre divided up by closed curves into a series of zones such that the attractive force is identical at every point of any given zone; of course the force is more intense in any given zone than on the zones outside it, and less than on the zones within and nearer the centre. Such zones we may call zones of equal attractive level, or to use the common technical term "equipotential zones". In Figures 1, 2 will be seen the distribution of the equipotential zones in a field about two centres: whether they be unlike (Figure 1) or like (Figure 2), in either case the equator is neutral. It is obvious that on any transverse plane at right angles to the axis uniting the centres, a point nearer the

axis lies in a zone at higher level of attractive force than one further from the axis; and consequently the attraction is greater the nearer we approach the axis. In other words it follows that the attraction or acceleration is greater on the axial chromosomes than on the peripheral ones, and that therefore the axial ones

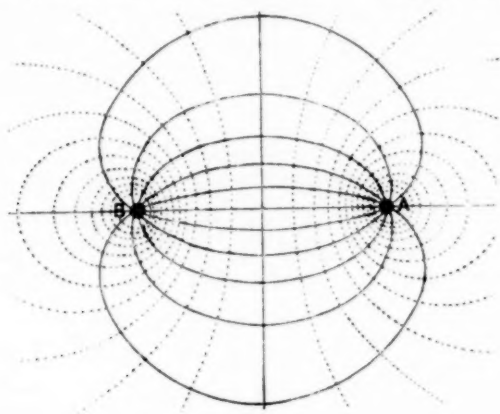


Fig. 1.

should lead, the peripheral ones lag, on any hypothesis of centred forces; and that this is true whether the field be heteropolar or homopolar. Thus, without use of the calculus we have obtained the same general result as Geigel, and that in a much more accurate form, since there is no attempt at impossible or uncertain

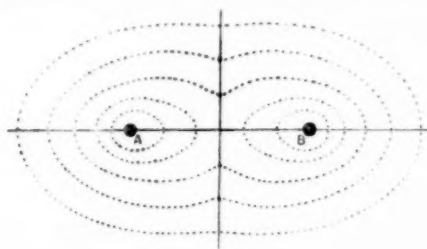


Fig. 2.

equalities; and an unjustifiable precision of statement is one of the worst forms of inaccuracy.

We have now to consider whether the axial chromosomes do actually lead, as they should or theory, or lag, as Geigel supposes; we admit that if they lag, all theories of centred forces

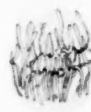
must be abandoned. But if on the contrary the axial chromosomes lead during the discession to the poles while the peripheral ones lag, we may report, like the ecclesiastical censor in his report to the licenser of books, "nihil obstat". We therefore turn to the facts of cytology. When there are enough chromosomes present for some to lie axial to the others the axial ones do actually lead during discession, as demanded by theory (Figures 3, 4, 5). When the number is limited, so that all lie



Fig. 3.



Fig. 4.



on the periphery, equidistant from the axis, they move on a level, constituting a crown-like figure. Now the microscopist rarely draws a simple reproduction of what he sees in the optical plane of distinct vision at one single focus: he involuntarily aims at a perspective representation that will convey to his public the



Fig. 5.

impression of what he has synthetised from the observations obtained at successive planes by the use of the fine adjustment. Geigel's¹⁾ Figures 2 and 3 of anaphases, which we reproduce here as Figures 6 and 7 represent such perspective diagrams, showing a crown of chromosomes all equidistant from the axis, which drawn in perspective, as shown by the lighter shading of the chromosomes on the far side, has the semblance of a curve with its concavity towards the nearer pole. It is this convention-

¹⁾ His Fig. 1 representing a late prophase with a symmetrical crown of chromosomes lateral to the "Hermann's spindle" is rather fantastic than schematic.

alisation of the figures shown to Geigel by his cytological friend that have misled him; and neither the mathematician, who accepted what was presented to him, nor the cytologist, who was probably content to accept the equation as it stood as a final settlement of the matter by an expert whose judgment it would have been presumptuous to doubt, can be held blameworthy, but rather both must be excused for their good faith: Geigel's in the diagrams, the cytologist's in the equations.

My own preparations are enough to show the "lead" of the axial chromosomes; but I am a very poor draftsman. I therefore reproduce copies of figures by Strasburger¹⁾ and Vejdowsky²⁾.

Such figures are scarce in literature for two reasons: 1. Cytologists naturally prefer such figures as are clear to decipher, and demonstrative for their purpose; and hence, as far as possible have illustrated the process of discission from cells with but a limited number of chromosomes, which consequently form a peripheral crown on the spindle. (In passing I may note that these show often each chromosome gliding along a single thread passing continuously from pole to pole along the curved line of force. In such cases there can be no question of "pull" or "push": there are neither "Zug-" nor "Druckfasern"³⁾). The frequent separation of the centrosomes during the actual process of mitosis demands neither pull nor push, when once we have

¹⁾ Über den Teilungsvorgang der Zellkerne etc. Arch. mikr. Anat., XXI (1882).

²⁾ Neue Untersuchungen über Reifung und Befruchtung, 1907, Fig. 123.

³⁾ The suggestion that some or all of the spindle-fibres exercise a push rests on two grounds. The first is the recession of the centrosomes during mitokinesis, which may be explained on other grounds; cytoplasmic traction, and the mutual repulsion in virtue of their like electric and osmotic charges, as we have seen; the second ground is the occasional observation that some of the achromatin threads of the spindle may be irregularly bent, or zigzag. This phenomenon is, I am convinced, due to the occasional failure of the threads to follow in their contraction the enormous contraction of the more solid peripheral parts of the cytoplasm in the processes of fixing, dehydration, and clearing We need badly a quantitative study of the shrinkage of histological specimens during the customary preparations. Even so careful an investigator as C. F. Meek in his measurements of chromosomes and of spindles has this vital point inadequately investigated. (Quart. J. Micr. Sc., July 1913.)

realised that they are the seats of like "charges" in respect of electricity and of osmosis.)

"Anaphases" — the stages of the discession of the chromosomes from the equator — are relatively rare in our specimens in proportion to other stages of mitokinesis; and among anaphases, the later stages are themselves rare. On the centred force hypotheses this scarcity of these stages in our preparations is easy of explanation. For the attraction on the chromosome is a direct function of its proximity to the centrosome; and consequently its speed of translation should increase until it comes into actual contact therewith. Now in the case of intermittent observations of consecutive phases the chance of observation of a given phase is an inverse function of the speed which that phase occupies. Thus, other things being equal, if as I write I look out of window occasionally for a moment, I am much more likely to see a slow cart than a swift automobile. When I first consulted that great electrician the late Professor W. E. Ayrton, about the interpretation of the cellfield, he suggested that the centred force hypothesis would be supported by any evidence that the chromosomes speeded up as they approached the centrosomes. I went away sorrowing, for I could not see how evidence on this point was to be obtained from our fixed specimens. It was not till long after that I saw that the scarcity of anaphases, and the still greater scarcity of late anaphases, supplied just the very evidence desiderated.

We are entitled to say that Geigel's paper instead of refuting the centred-force hypotheses has, if anything, advanced their title to support.

II.

Geigel's second thesis deals with the formation of the attractive eminence formed on the oosphere on the approach of the sperm. This grows out vertically underneath the sperm, and has the form of a mound with doubly curved sides, concave at the flanks, but with the tip rounded off into a blunted cone, like the top of a sugar-loaf. Geigel argues that if the formation be due to loss of surface-tension of the skin-layer of the oosphere induced by the approach of the sperm, the outline of the curve should be a simple convex curve. Geigel has assumed a direct physical effect, instead of a physiological response.

Now physiological response is not proportional to the physical value of the stimulus, but according to the Fechner-Weber statement (which is probably a simplification of the facts) it increases arithmetically as the stimulus increases geometrically. Moreover Geigel ignores altogether the consideration of the "threshold value" (Schwellenwert) of a stimulus, below which minimum no response is evoked: "de minimis non curat lex" vivendum. According to Geigel the blunt elongated finger-shaped pseudopods of many Lobose Rhizopods are impossible: it does seem such a pity that Geigel's interest in biological questions has not so far induced him to study them for himself. We feel this regret again, when he discusses the chemiotaxy of the sperms, in ignorance of the researches of H. S. Jennings,¹⁾ who has shown so conclusively that most if not all cases of chemiotaxy are better expressed in terms of negative preferential avoidance than of positive preferential approach. Thus *Paramecium* moving in water rich in CO₂ swim about indifferently so long as it is in this favoured region, but as soon as it passes away from it, it stops, reverses, turns and change sits direction of progress. As the sperms spread evenly in the medium we must suppose that they avoid one another. There is no need to postulate with Geigel a new physical force at work in the approach of the sperm to the oosphere, and the formation of the receptive hillock on the latter.

Conclusions.

- (1) Geigel's contention that in a field of centred force the axial chromosomes in discession should lead while the peripheral ones lag is correct.
- (2) This characterises the behaviour of actual chromosomes during anaphase.
- (3) His belief that this is not the case in the living cell is contrary to observed facts, and is based on an inadequate knowledge of the subject, and reliance on misleading diagrammatised figures.
- (4) The scarcity of anaphases in fixed specimens is probably due to the speeding up of the chromosomes as they approach the poles: — it is a fact that tells in favour of centred-force hypotheses.

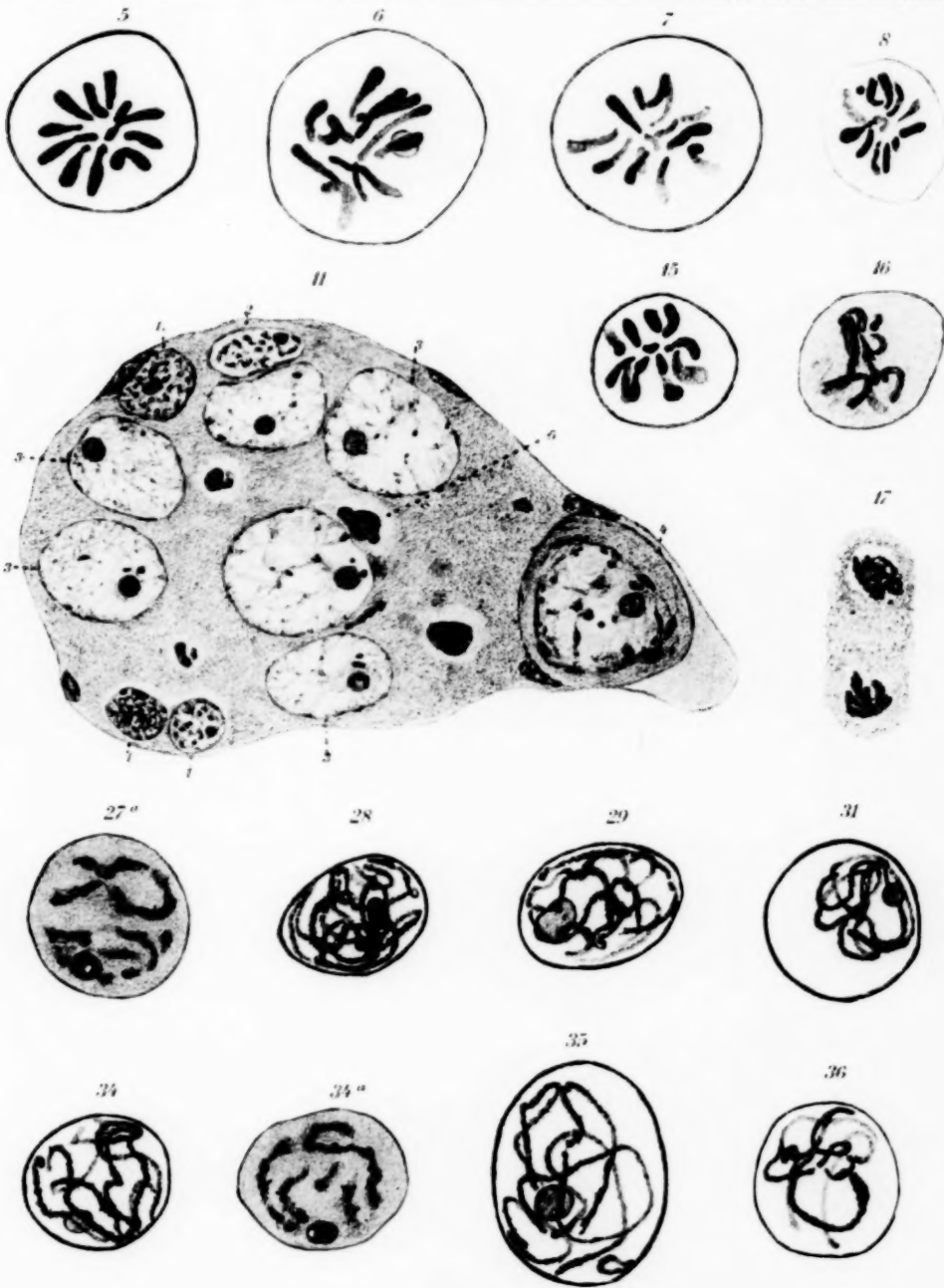
¹⁾ Contributions to the study of Behavior in the Lower Organisms.

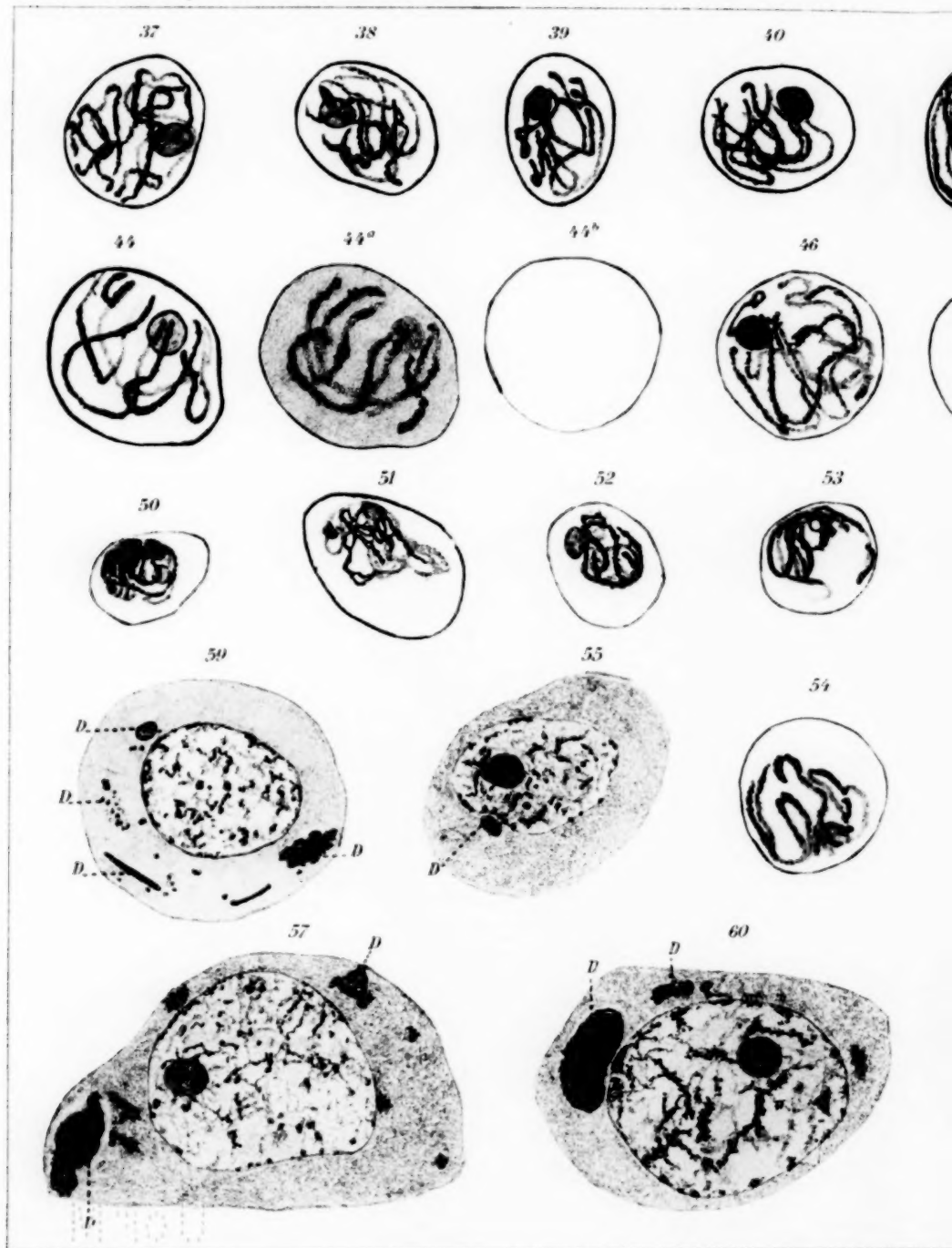
- (5) Where the achromatic spindle contains only as many threads as there are chromosomes it is impossible to invoke "pull" or "push", and the motion of the chromosomes must be due to centred force acting along the lines of the spindle fibres.
- (6) The zigzag irregularities sometimes found in the spindle fibres, and often ascribed to "push" along them, is probably an artefact due to irregularity of contraction during histological preparation.
- (7) Geigel in his discussion on fertilisation has omitted to take into account the differences between physiological and purely physical response, as illustrated by the facts of the "threshold" minimum stimulus, and by the Fechner-Weber law.
- (8) In the interests of biology it is most desirable that competent physicists should study and discuss biological theories and hypotheses.

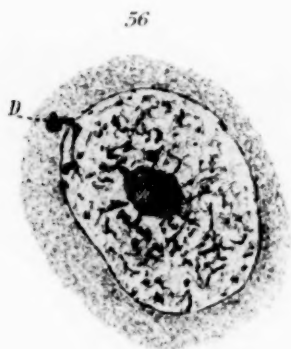
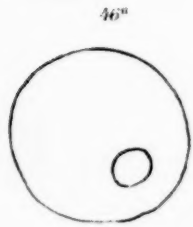
Description of Figures.

- Fig. 1. Distribution of equipotential zones (dotted) in an axial section of a homogeneous field about two equal centres of opposite sign; the continuous lines are the lines of force (after J. J. Thomson).
- Fig. 2. Distribution of equipotential zones in an axial section of a homogeneous field about two centres of like sign.
- Fig. 3 and 4. Anaphases in endosperm after Strasburger (Arch. m. A., t. 23); Fig. 3 *Galanthus nivalis* (t. 23, Figs. 52, 53); Fig. 4 *Lilium croceum* (t. 23, Figs. 41, 42).
- Fig. 5. Anaphase in first maturation spindle of *Rhynchelnis pallida*, after Vějdovský.
- Fig. 6 and 7. Reproductions of Geigel's Fig. 2, 3; perspective views of a two simple crowns of daughter chromosomes in anaphase, those on the far side being indicated by the lighter shading.

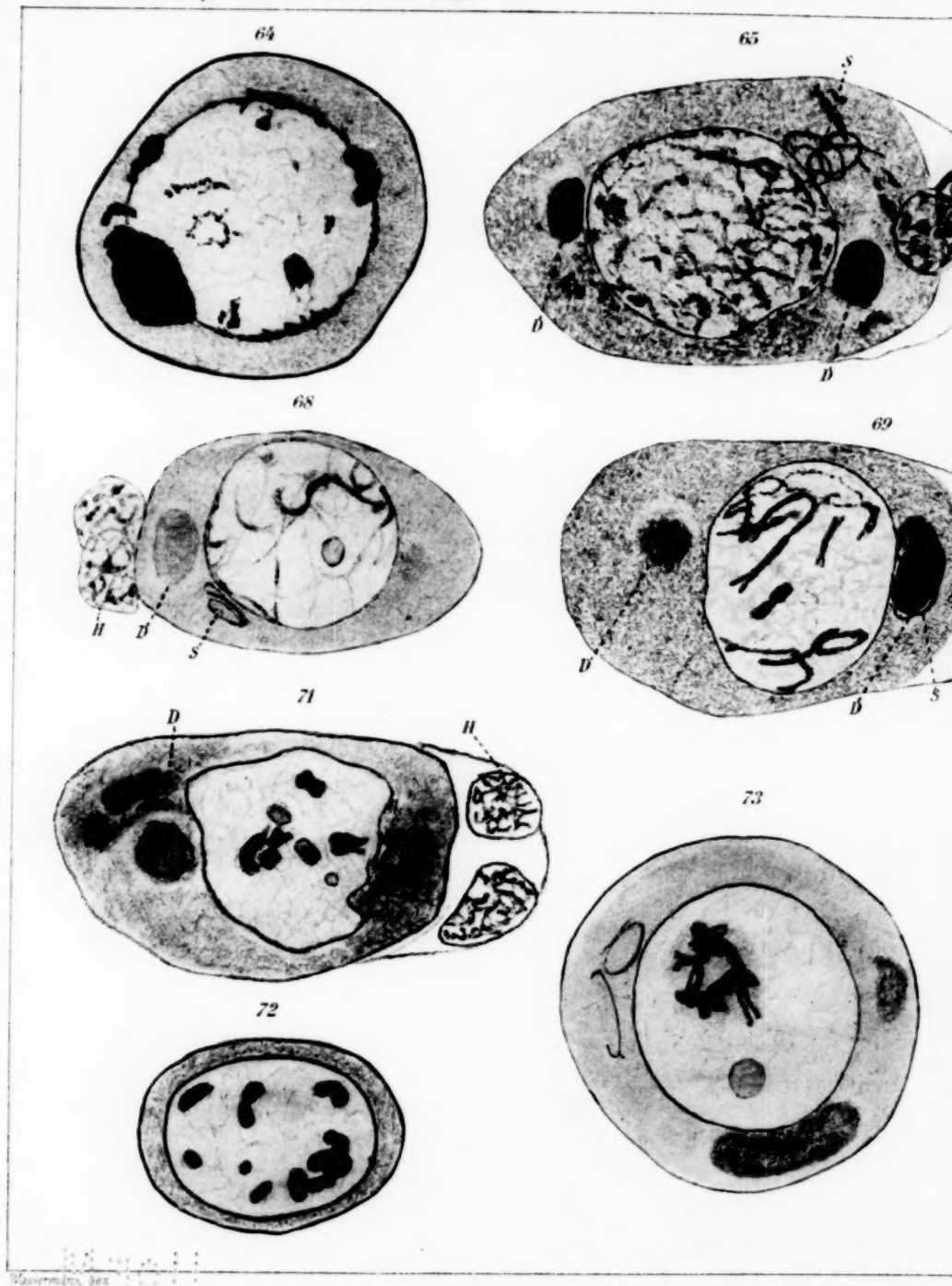


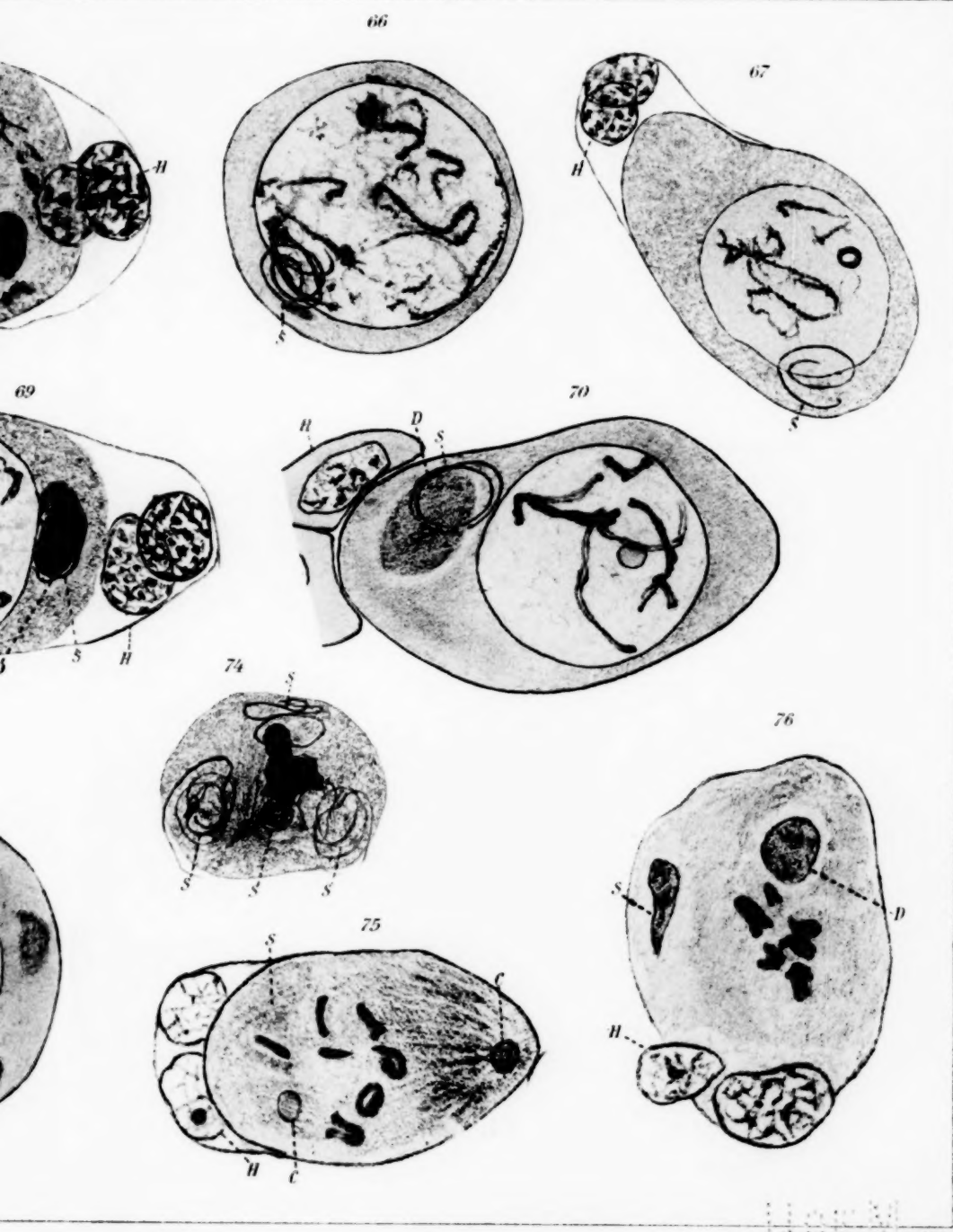




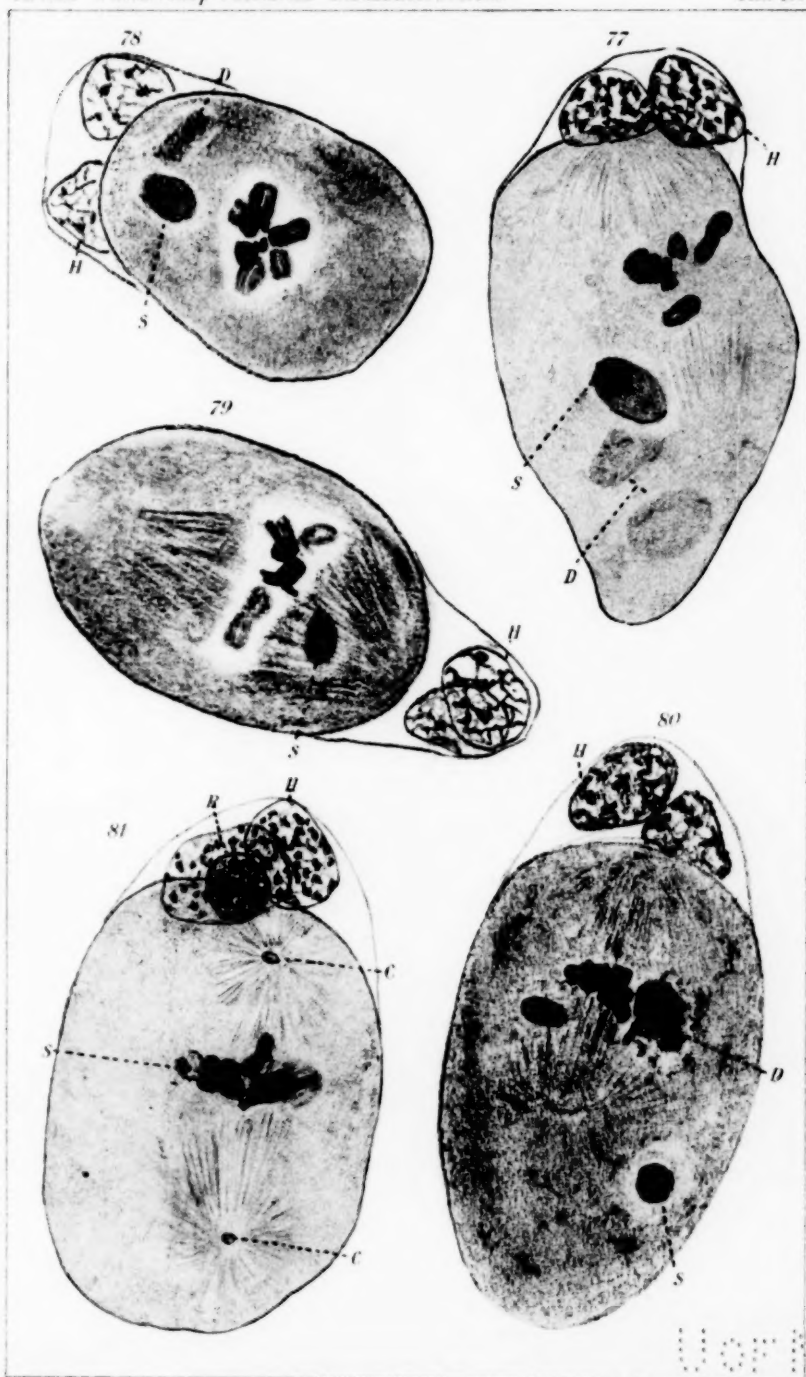


UoPM



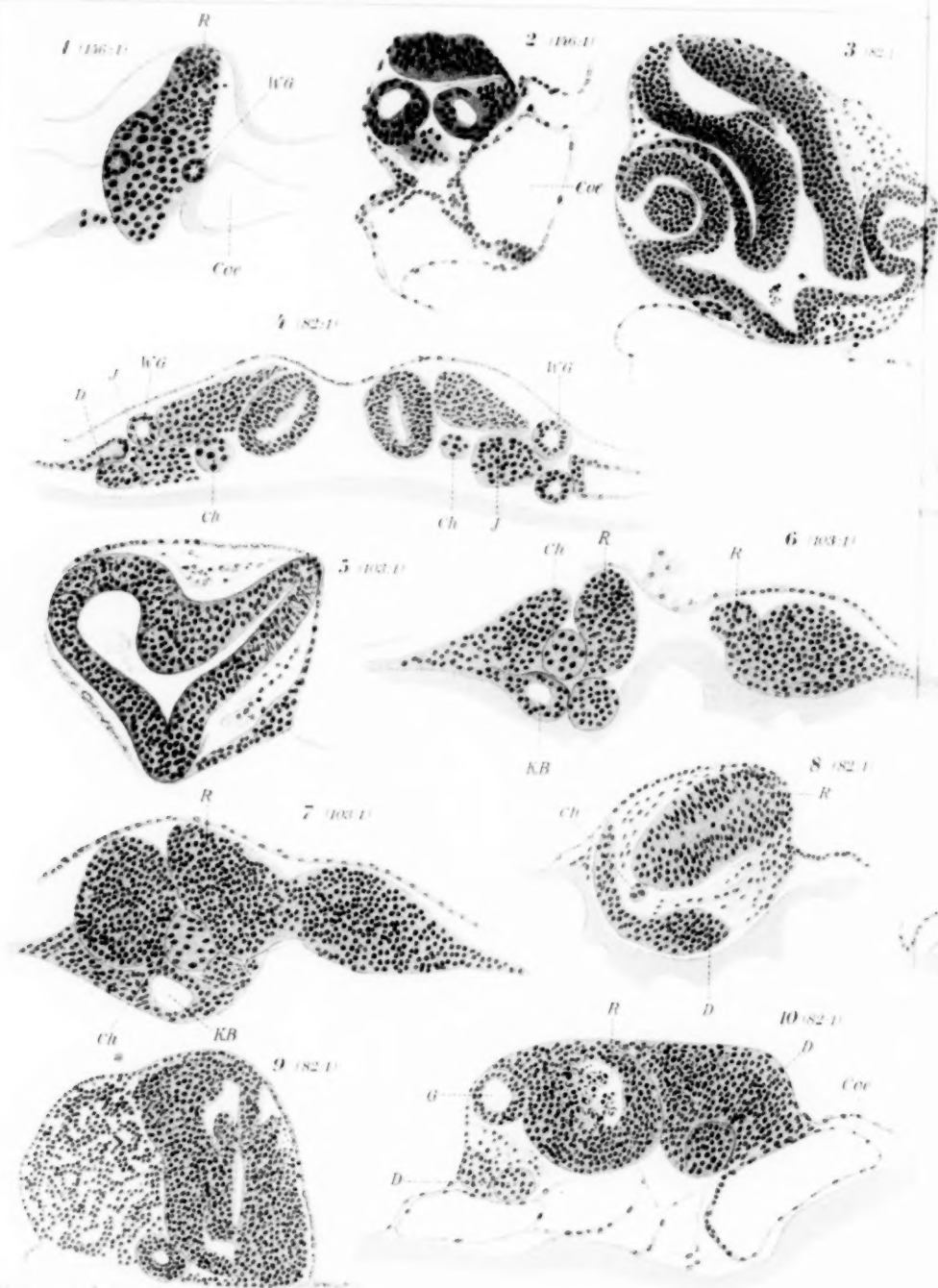


U of M









3 (82.1)

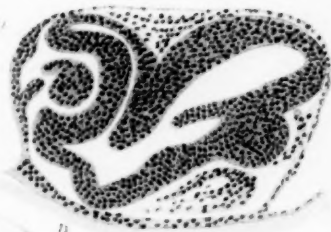


1

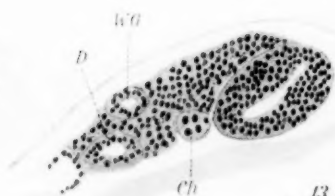
2.1

ce

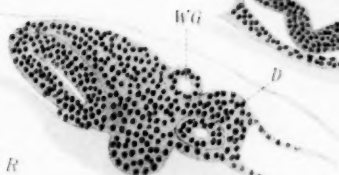
12 (82.1)



11 (82.1)



13 (82.1)



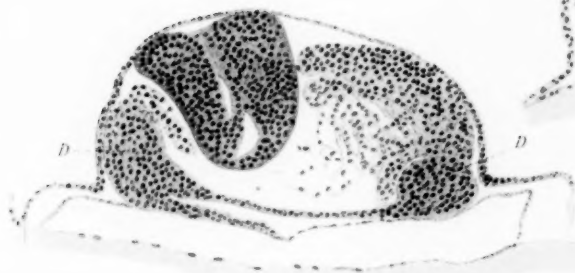
14 (82.1)



16 (82.1)



15 (82.1)



18 (82.1)



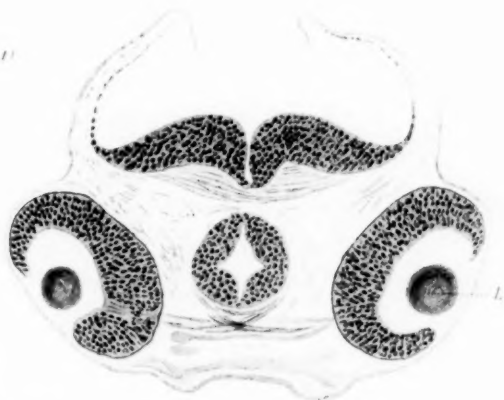
17 (82.1)



U.S.N.M.

1040 M

1 (82.1)



2 (82.1)



3 (82.1)



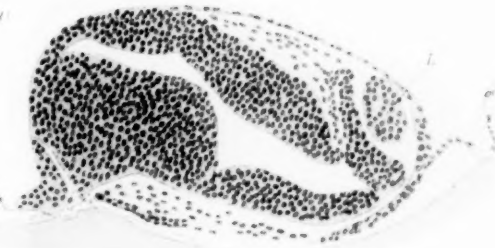
4 (82.1)



5 (82.1)



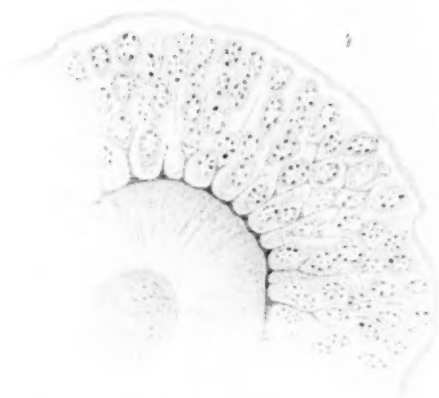
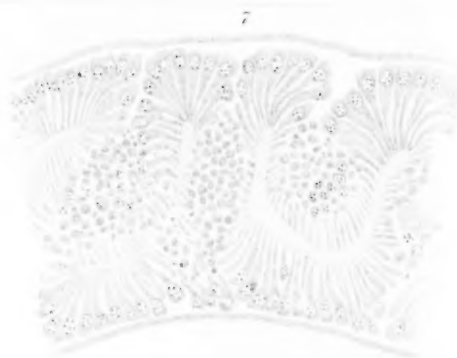
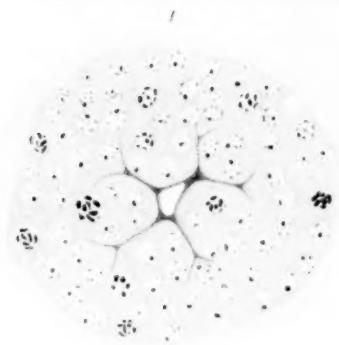
6 (82.1)

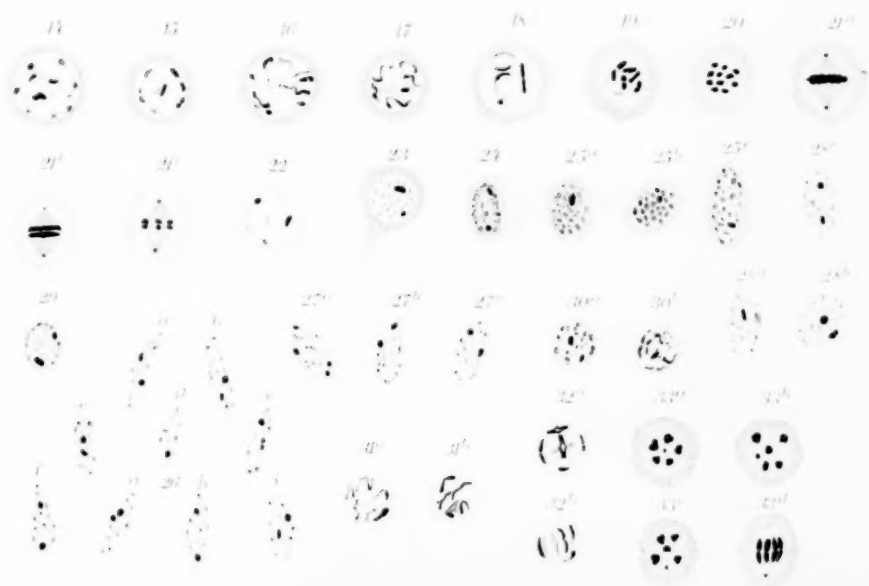
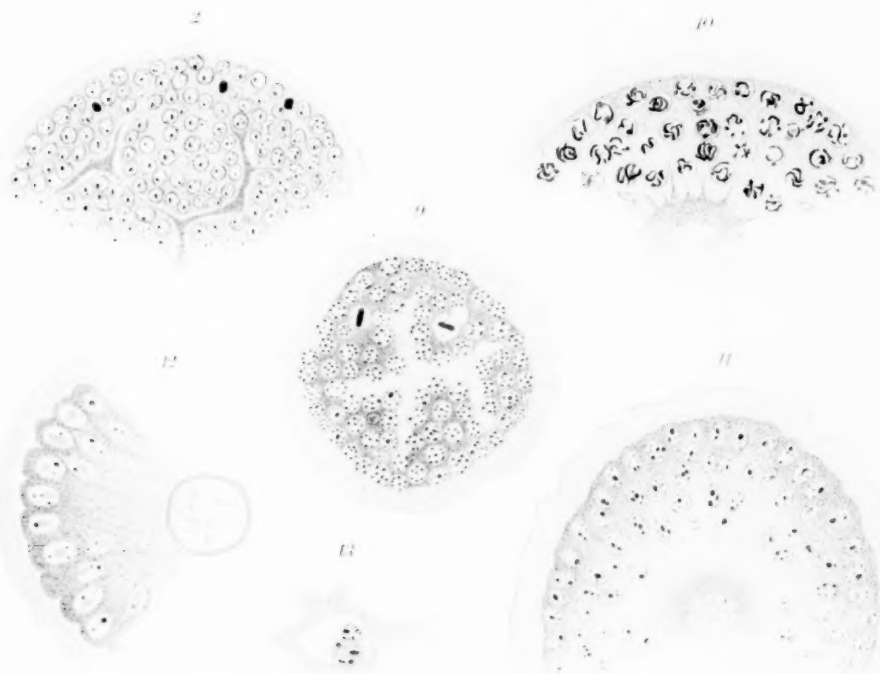


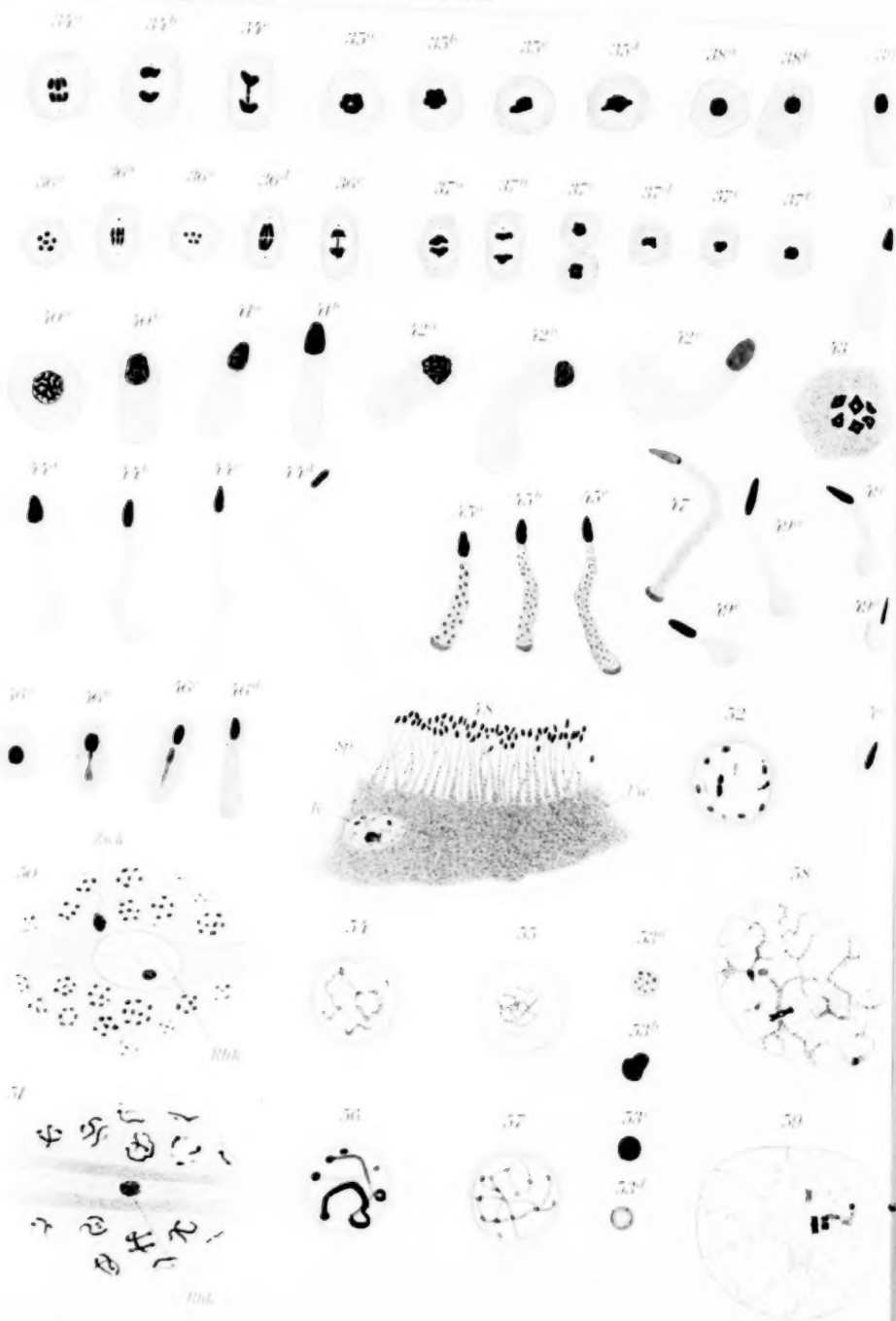
7 (82.1)



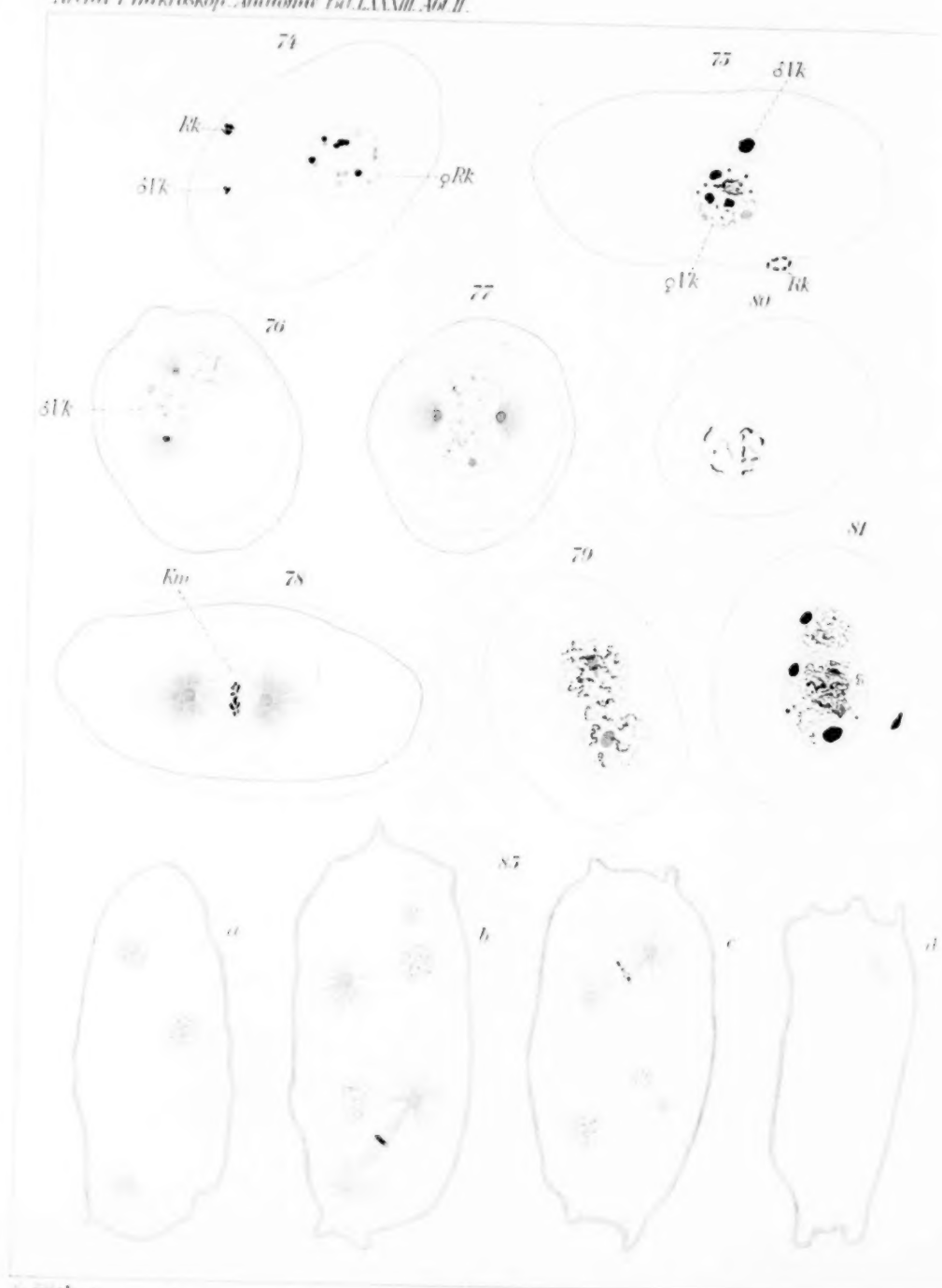
U. of M.





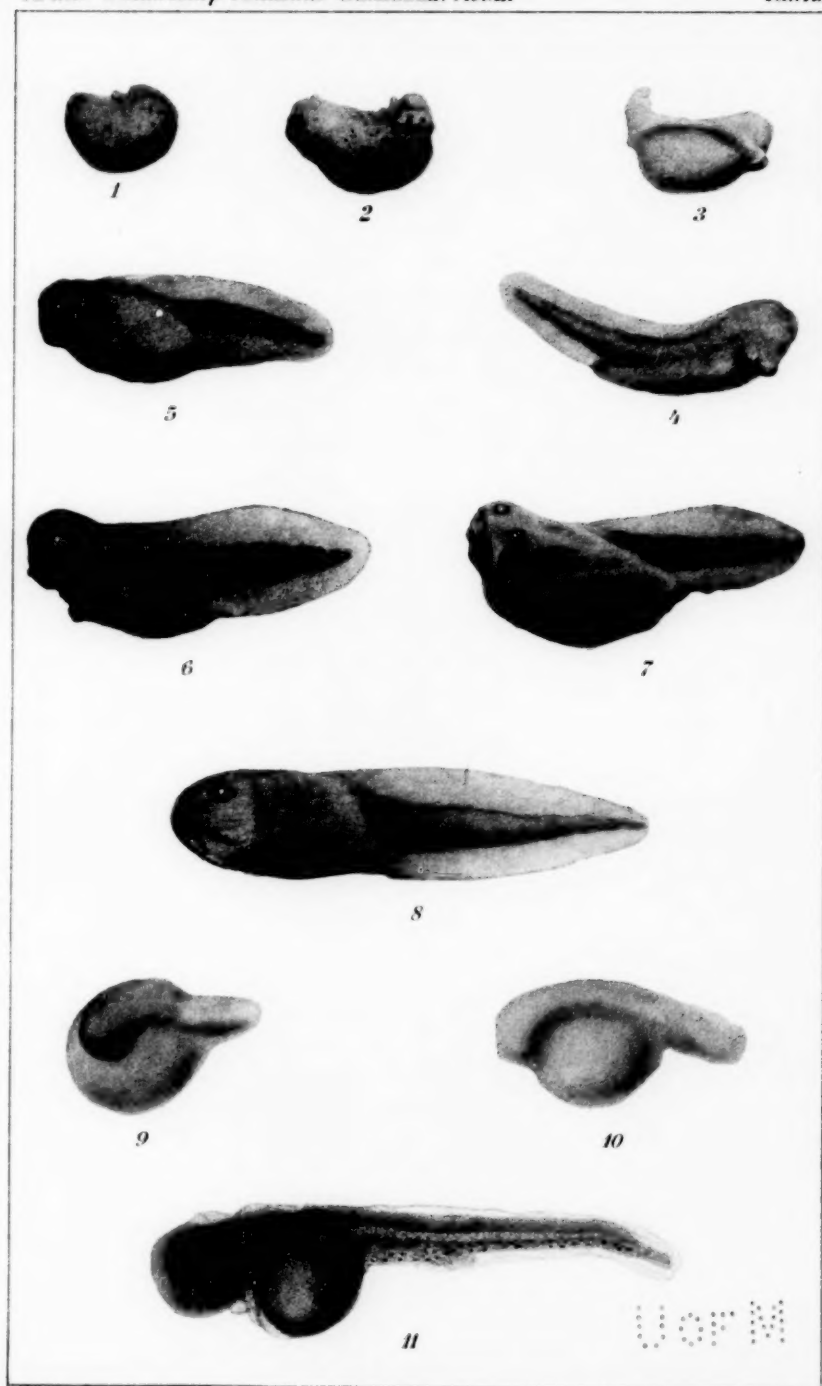








M706







U.S.P.M.

1



2



3



4



5

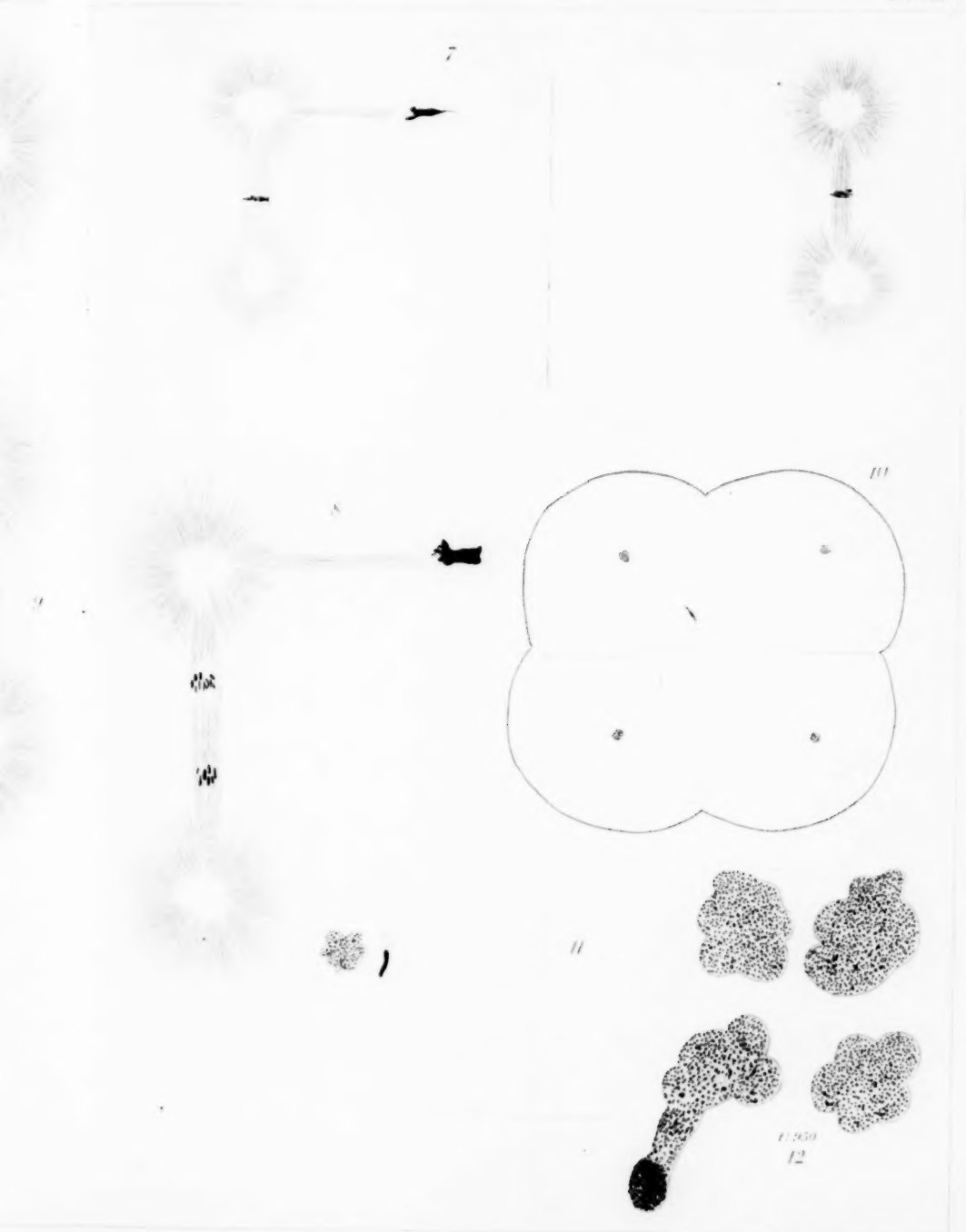


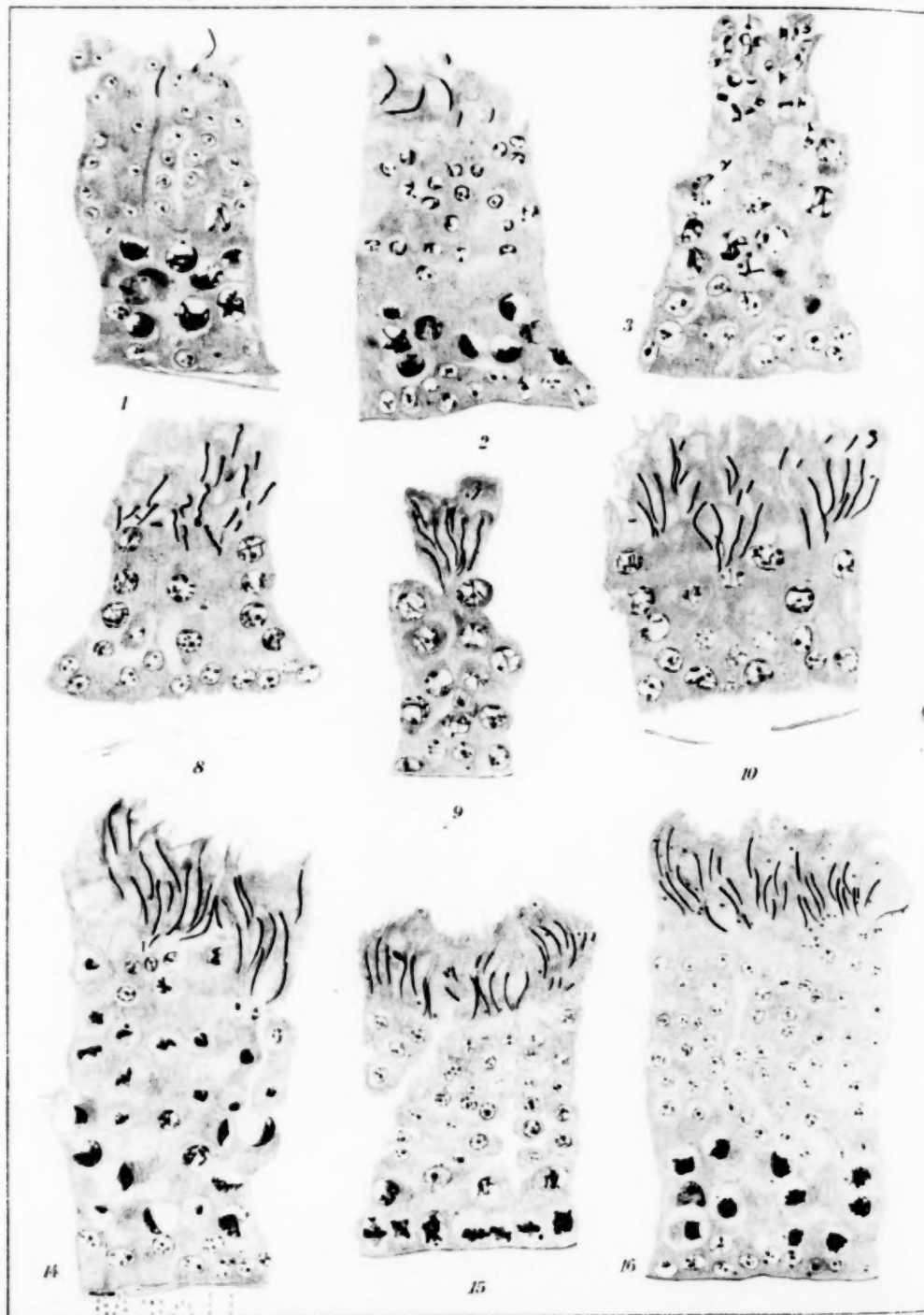
6

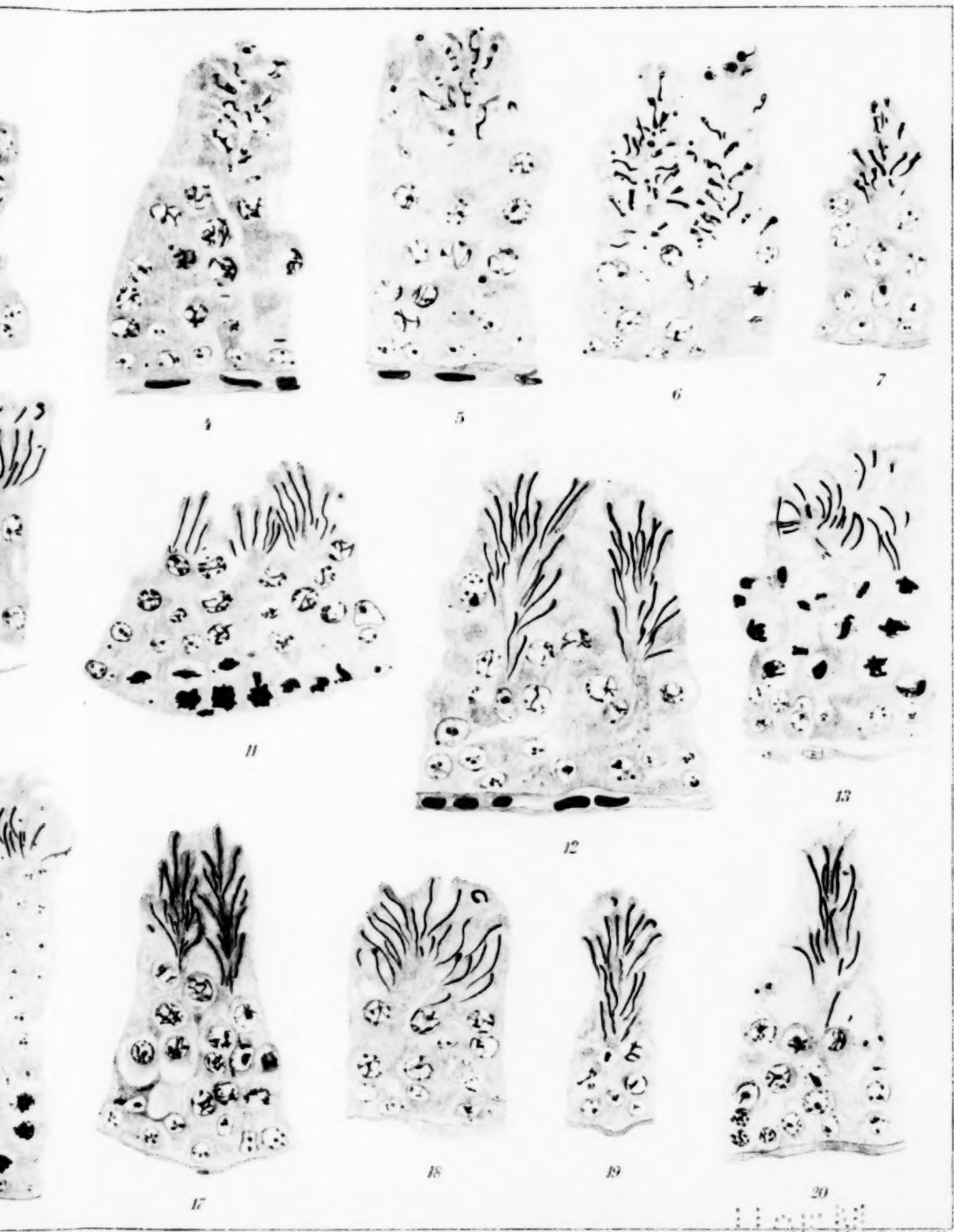


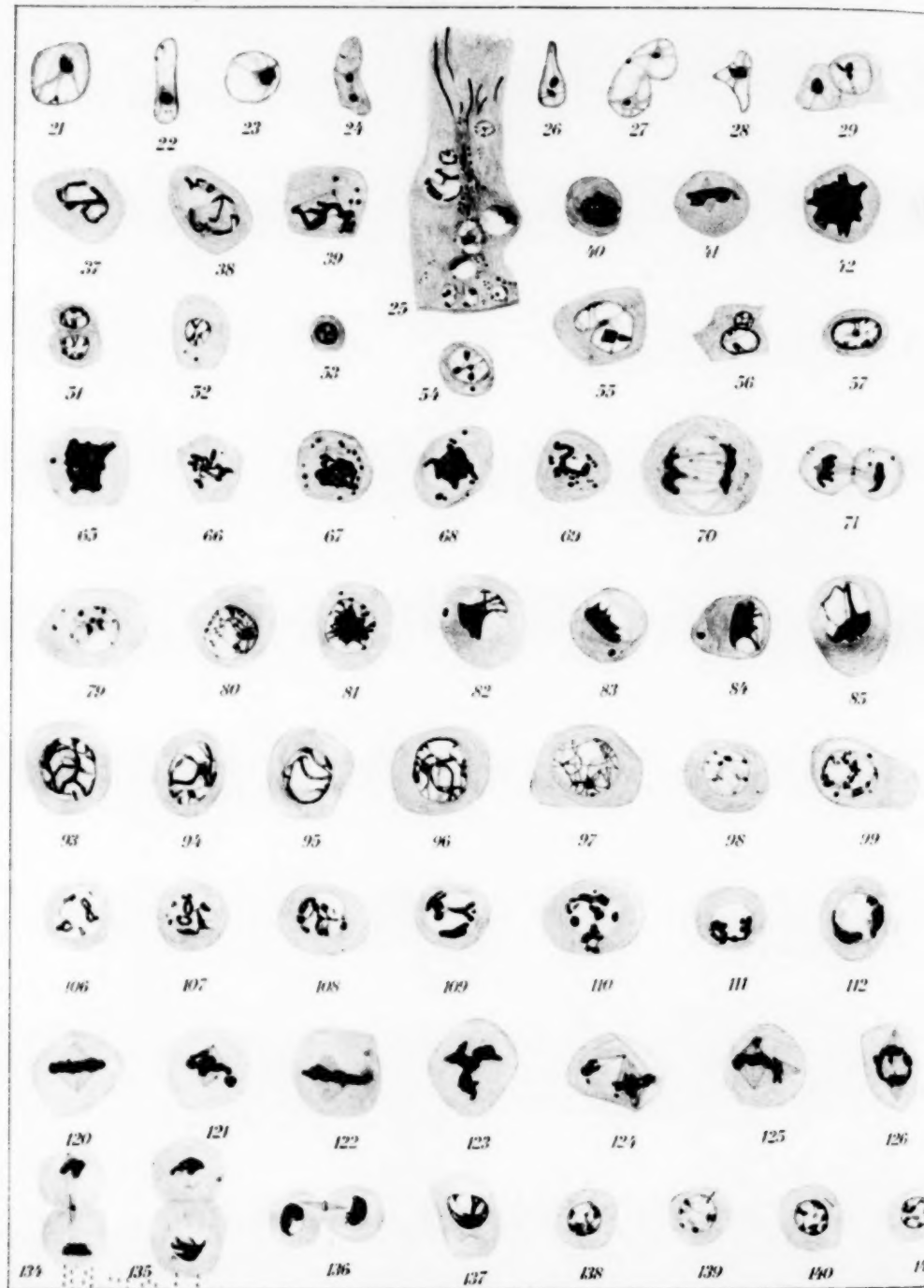
7

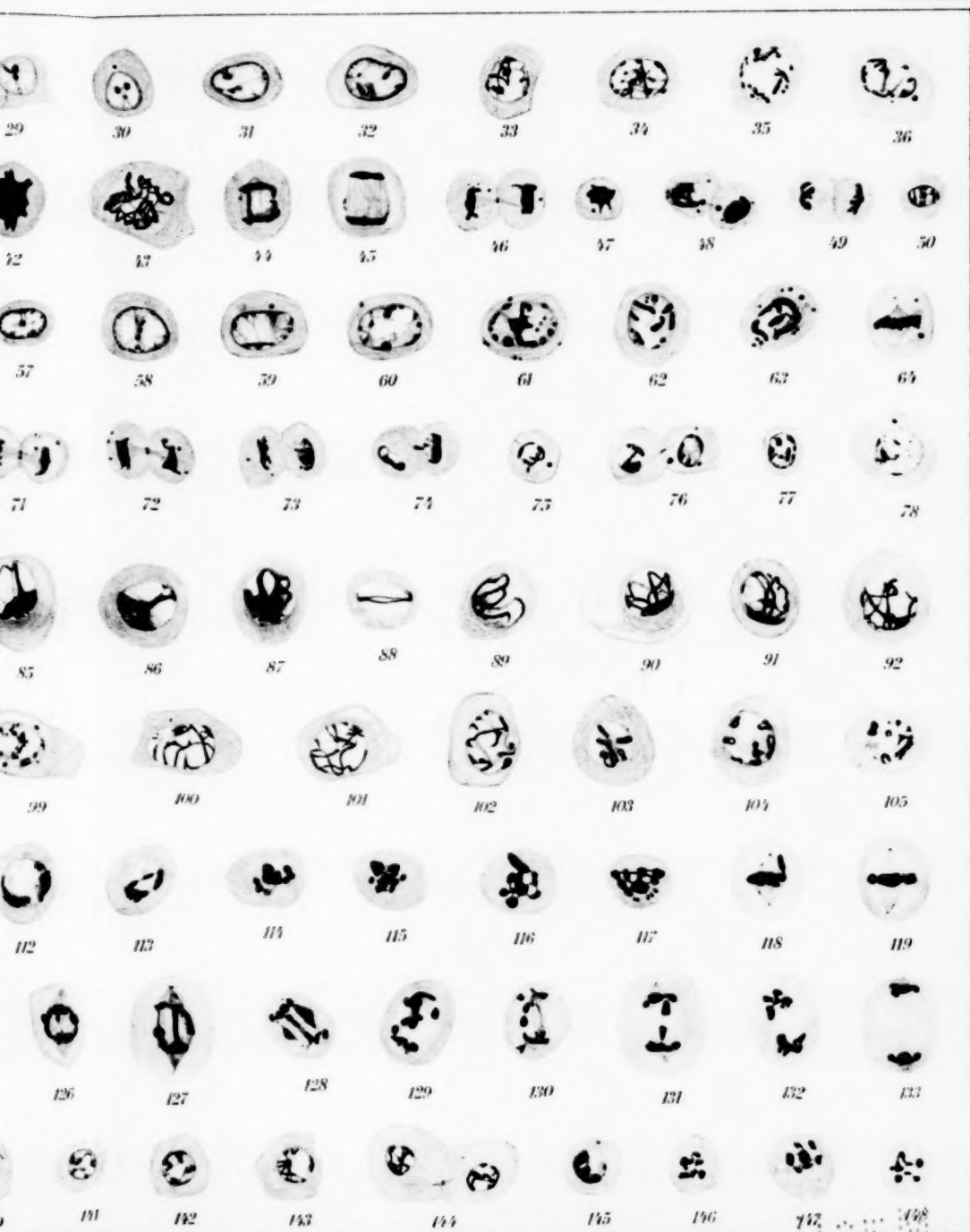


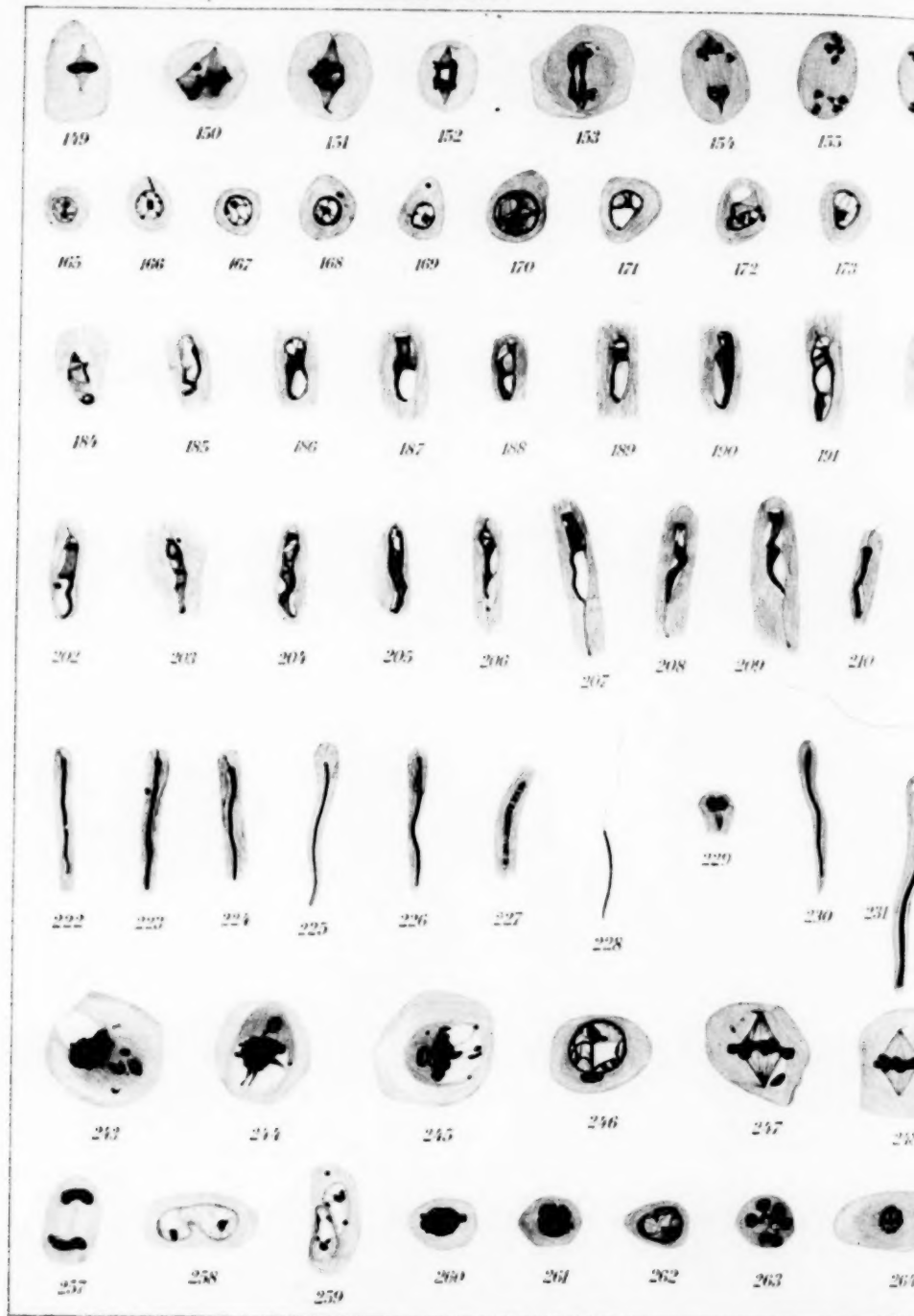


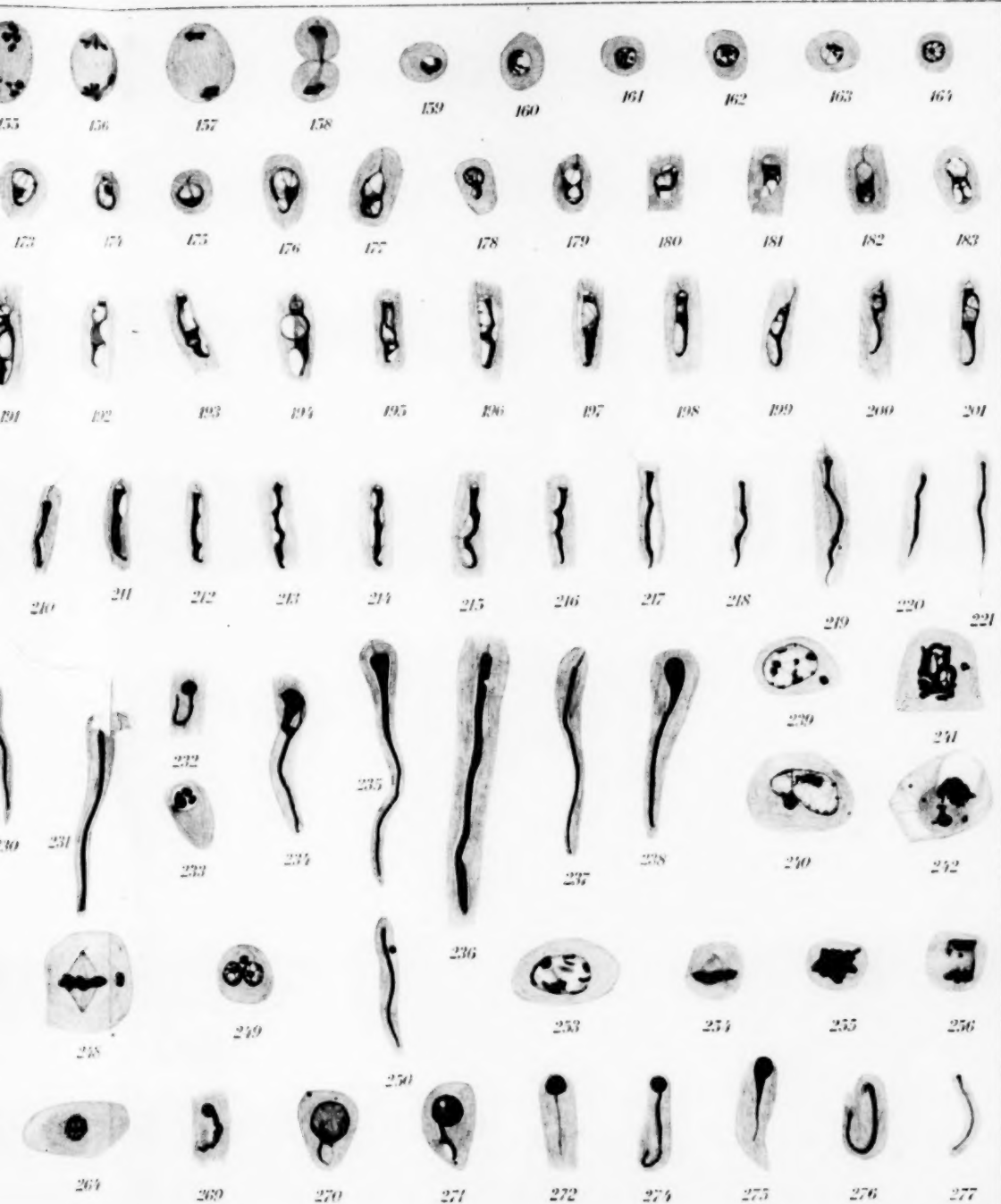


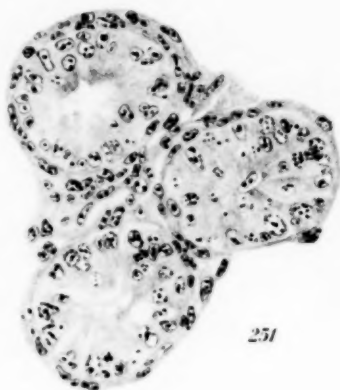








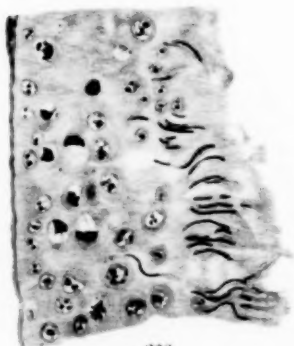




251



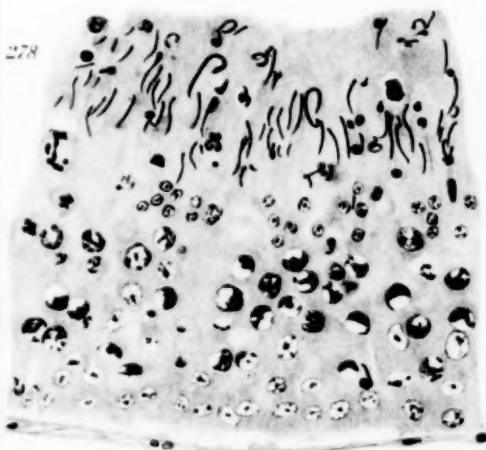
252



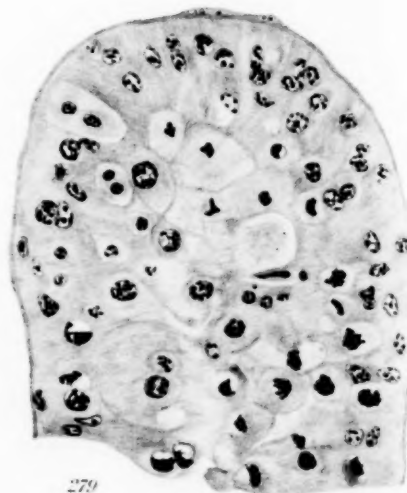
268



273



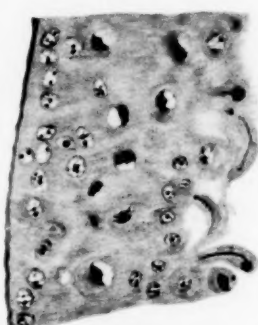
278



279



265



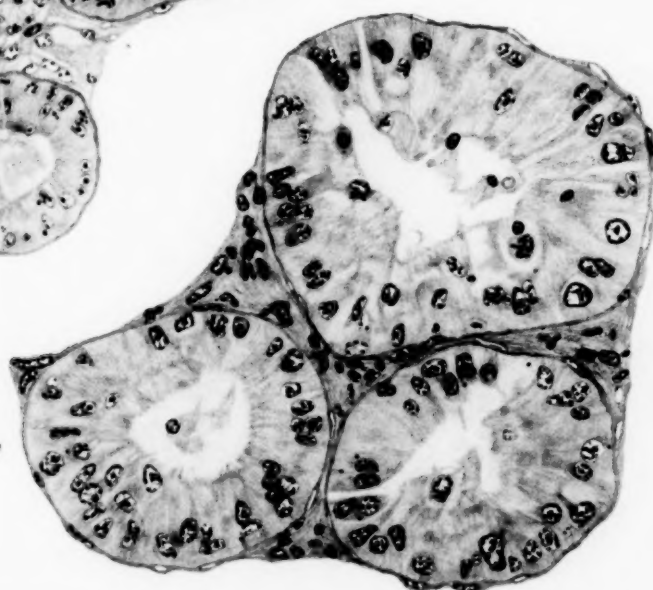
266



267



281



280